

Oestrogenkonzentrationen in Gonaden
und Nebennieren von Säuglingen
und Kleinkindern sowie in Gonaden
von Feten

Tim-Matthias Strom

Diss
München
1996



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinderklinik der Universität München
im Dr. von Haunerschen Kinderspital

Vorstand: Prof. Dr. med. H.-B. Hadorn

Oestrogenkonzentrationen in Gonaden und Nebennieren
von Säuglingen und Kleinkindern sowie in Gonaden von Feten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Tim-Matthias Strom

aus

Berlin

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof.Dr.med., Dr.rer.biol.hum. F. Bidlingmaier Prof.Dr.med., Dr.rer.nat. E. Kuß
Mitberichterstatter:	Prof.Dr.med. H.-B. Hadorn Prof.Dr.med. D. Knorr
Dekan:	Prof.Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25. März 1986

Meinen Eltern

Die vorliegende Arbeit entstand in der Kinderklinik der Universität München. Das Thema wurde mir von Herrn Prof. Dr. F. Bidlingmaier, Leiter der klinischen Laboratorien, gestellt. Für das Zustandekommen dieser Arbeit war seine aufmerksame Förderung entscheidend. Ihm gilt mein Dank zuerst. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. Knorr, Leiter der Abteilung für pädiatrische Endokrinologie, für freundliche Beratung und Anteilnahme, Herrn Prof. Dr. H.-B. Hadorn, Direktor der Kinderklinik, für die Anregung einer Arbeit in pädiatrischer Biochemie, den technischen Assistentinnen des endokrinologischen Labors Frau B. Schramm, Frau U. Keller, Frau R. Kuhwald, Frau N. Lechner und Frau A. Rüdissier für die bereitwillige Hilfe bei der technischen Durchführung und Herrn Prof. Dr. W. Eisenmenger vom Institut für Rechtsmedizin der Universität München für die Überlassung des Untersuchungsmaterials. Materiell gefördert wurde die Arbeit durch ein Graduiertenstipendium des Freistaates Bayern. Auch für diese Hilfe möchte ich an dieser Stelle danken.

München, im Dezember 1985

Tim-Matthias Strom

<u>1. Einleitung</u>	1
1.1. Oestrogene beim Menschen im Laufe der Entwicklung	1
1.2. Fragestellungen	6
<u>2. Experimenteller Teil</u>	7
2.1. Reagentien	7
2.2. Experimenteller Ansatz	8
2.3. Methoden	8
2.3.1. Herstellung und Charakterisierung der Antiseren	8
2.3.1.1. Herstellung der Antiseren	8
2.3.1.2. Charakterisierung der Antiseren	8
2.3.2. Untersuchungsmaterial	9
2.3.3. Bestimmung von Oestron, Oestradiol und Cortisol	10
2.3.3.1. Homogenisierung der Gewebe	10
2.3.3.2. Vorbereitung der Plasma- und Gewebeproben zur Bestimmung von Oestron und Oestradiol	11
2.3.3.3. Behandlung der Standards in den Oestrogenassays	12
2.3.3.4. Durchführung des Oestrogen-Radioimmunoassays	12
2.3.3.5. Bestimmung von Cortisol im Plasma	12
2.3.4. Charakterisierung der Methoden	13
2.3.4.1. Wiederfindung	13
2.3.4.2. Chromatographische Trennung der Oestrogene	14
2.3.4.3. Empfindlichkeit und Präzision der Methoden	14
2.3.4.4. Präzision der Messung von Gewebekonzentrationen	14
2.3.4.5. Statistische Methoden	17
<u>3. Ergebnisse</u>	18
3.1. Oestron, Oestradiol und Cortisol im Plasma von an plötzlicher Todesursache verstorbenen Mädchen	18
3.2. Gewebeuntersuchungen	18
3.2.1. Ovar	18
3.2.1.1. Ovargewichte	18
3.2.1.2. Oestrogene im Ovargewebe	22
3.2.2. Hoden	23
3.2.2.1. Hodengewichte	23
3.2.2.2. Oestrogene im Hodengewebe	23
3.2.3. Oestrogene im Nebennierengewebe	26
3.2.4. Vergleich der Oestrogengehalte von Ovar, Hoden und Nebenniere	28
3.2.5. Oestrogene im Gewebe von fetalen Gonaden	30

<u>4. Diskussion</u>	31
4.1. Hypothese und Fragestellung der Arbeit	31
4.2. Cortisol und Oestrogene im zirkulierenden Blut	34
4.3. Die Bedeutung von Gonaden und Nebennieren als Quellen der Oestrogene	36
4.4. Ursachen für die Streuung der gemessenen Gewebekonzentrationen	39
4.5. Zusammenhang von funktionellen und morphologischen Veränderungen mit der Oestrogenproduktion von Gonaden und Nebennieren	41
4.6. Oestrogenproduktion in den fetalen Ovarien	44
4.6.1. Frühere Untersuchungen	44
4.6.2. Eigene Ergebnisse	46
4.6.3. Regulation der Oestrogenbiosynthese in den fetalen Ovarien	47
4.6.4. Bedeutung der Oestrogene in der embryonalen und fetalen Entwicklung	49
<u>5. Zusammenfassung</u>	51
<u>6. Literaturverzeichnis</u>	54

1. Einleitung

1.1. Oestrogene beim Menschen im Laufe der Entwicklung

Die Bestimmung von Oestrogenen mit colorimetrischen (Kober 1931, Brown 1955, Bauld 1956) und fluorimetrischen (Brown 1968) Methoden ist schon lange möglich und diente zur Untersuchung des Oestrogenstoffwechsels der geschlechtsreifen Frau. Bei ihr stammt der größte Teil der Oestrogene aus dem Ovar. Ihre Sekretion ist gonadotropinabhängig. Auch beim männlichen Geschlecht ist nach der Pubertät eine deutliche Oestrogenproduktion zu beobachten, was vor allem durch eine Konversion der aus Nebenniere und Hoden sezernierten Androgene zu Oestrogenen erklärt ist.

Ebenfalls gut untersucht ist die Periode hoher Oestrogenproduktion, die den weiblichen und männlichen Fetus in utero betrifft (Diczfalusy und Mancuso 1969, Villee 1969). In dieser Periode sind die Gonaden nur wenig an der Produktion der Oestrogene beteiligt. Den größten Teil produziert die Plazenta im Zusammenwirken mit dem Fetus. Sie selbst ist zur vollständigen Oestrogensynthese unfähig und benötigt als Precursor Dehydroepiandrosteron-Sulphat aus der fetalen Nebennierenrinde. In der Plazenta wird es zu Oestron und Oestradiol, bzw. nachdem es in der fetalen Leber zu 16 OH-Dehydroepiandrosteron hydroxiliert wurde, zu Oestriol konvertiert. Diczfalusy (1962) studierte im Detail diesen Prozeß und entwickelte das Konzept der "Feto-Placentaren Einheit". Ob die hohen Gonadotropinspiegel im fetalen Blut, die sowohl aus der Plazenta als auch aus der fetalen Hypophyse stammen, die Ovarien der weiblichen Feten zur Oestrogensynthese anregen, ist umstritten. Auch ist die Bedeutung der hohen Oestrogenkonzentrationen für den Fetus noch ungeklärt.

Wenig bekannt und untersucht ist eine zwischen Fetalzeit und Pubertät liegende Periode hoher Oestrogenaktivität. Sie fällt in die frühe Kindheit. Ihre Bedeutung ist noch weitgehend unklar. Bis vor kurzem war noch die Ansicht weit verbreitet, daß sich die kindlichen Gonaden nach der Geburt in einer Ruhephase befinden. Als es durch die Einführung radioimmunologischer Methoden zur Messung von Proteohormonen (Berson und Yalow 1959) und Steroiden (Abraham 1969) möglich wurde, auch Hormonkonzentrationen im Plasma von Säuglingen und Kleinkindern

zu messen, mußte diese Ansicht zumindest für die frühe Kindheit revidiert werden. Gerade in der frühesten Lebensperiode wurden überraschend starke Aktivitäten der Hypophysen-Gonaden-Achse aufgedeckt.

Bei der radioimmunologischen Untersuchung der LH-Ausscheidung im Harn von Kindern bemerkten schon 1970 Buckler und Clayton, daß Jungen in den ersten sechs Lebensmonaten größere Mengen dieses Gonadotropins ausscheiden als in der späteren Kindheit. Faiman und Winter (1971) stellten hohe Gonadotropinkonzentrationen im Plasma von männlichen und weiblichen Säuglingen fest, die auf eine erhöhte Aktivität der Hypophyse nach der Geburt hinwiesen. Detailliertere Untersuchungen ließen sogar ein geschlechtsspezifisches Sekretionsmuster deutlich werden (Winter et al. 1975).

Bei Mädchen wird besonders das FSH vermehrt produziert (Abb. 1). Etwa eine Woche nach der Geburt steigen die FSH-Konzentrationen im Blut weiblicher Säuglinge steil an. Im dritten Lebensmonat erreichen sie Spitzenwerte, die im oberen Normbereich der erwachsenen Frau liegen. Nach dem dritten Monat fällt das FSH wieder ab, um am Ende des zweiten Lebensjahres die niedrigen Werte der späteren präpubertären Kindheit zu erreichen. Bei den Jungen kann man ebenfalls eine Erhöhung des FSH feststellen, doch ist sie nicht so ausgeprägt wie bei den Mädchen. Für die Jungen ist das LH das charakteristische Gonadotropin (Abb. 2). Etwa vom zweiten bis dritten Monat erreicht es bei ihnen vorübergehend Werte, die im oberen Normbereich des erwachsenen Mannes liegen.

Es besteht also im frühen Kindesalter ein starker gonadotroper "Druck" von der Hypophyse auf die Gonaden. Forest et al. (1973) zeigten als erste, daß bei männlichen Säuglingen der typische LH-Anstieg mit einer vorübergehenden, überraschend starken Erhöhung des Plasma-Testosterons einhergeht (Abb. 2). Bidlingmaier et al. (1974) fanden bei Mädchen ein ähnliches Verhalten der Oestrogenspiegel im Plasma. Bei ihnen folgt dem steilen postnatalen Abfall der Oestrogene von den hohen Werten der Schwangerschaft auf Konzentrationen nahe Null zu Beginn der zweiten Lebenswoche ein erneuter Anstieg des Oestradiols. Die Werte erreichen ihren Höhepunkt im dritten Monat und fallen dann langsam bis zum Ende des zweiten Lebensjahres auf die präpubertären

Normwerte ab. Auch das Oestron zeigt um den dritten Lebensmonat eine - allerdings geringere - Erhöhung (Abb. 1). Die Streuung der Werte ist bei den Mädchen erheblich. Auch bei den Jungen ist parallel zur Erhöhung des Testosterons im Plasma ein Anstieg der Oestrogenkonzentrationen (Abb. 2) festzustellen, der jedoch nur für Oestradiol, nicht aber Oestron statistisch signifikant ist (Bidlingmaier und Knorr 1978).

Es wird heute allgemein angenommen, daß die frühe Oestrogenwelle bei Säuglingen eine vorübergehende Aktivierung der infantilen Gonaden widerspiegelt. Die erhöhten Oestrogenwerte im Plasma von Säuglingen könnten jedoch auch, ohne daß tatsächlich eine erhöhte Hormonproduktion vorliegen muß, durch eine verminderte Metabolisierung und Ausscheidung verursacht sein, eventuell hervorgerufen durch eine Erhöhung des Bindungsproteins im Plasma, des Testosteron-Oestradiol-bindenden-Globulins, wodurch der gebundene, der raschen Metabolisierung entzogene Anteil der Steroide erhöht würde. Diese Vermutung ist insofern widerlegt, als die wichtigsten Metaboliten der Oestrogene, die Sulfate und Glucuronide von Oestradiol und Oestron, in der betreffenden Zeit auch im Harn erhöht gefunden werden (Kuhnle et al. 1982). Ähnlich verhalten sich die Androgene. Auch sie werden stark vermehrt im Harn ausgeschieden, wenn bei männlichen Säuglingen die Testosteronwelle im Blut nachweisbar ist (Krawczynska et al. 1976).

Bisher liegt noch kein direkter Beweis dafür vor, daß die vorübergehend hohen Oestrogenkonzentrationen im Plasma tatsächlich auf eine vermehrte Aktivität der Gonaden zurückzuführen sind. Der Anteil der Nebennierenrinde an den Fluktuationen der Oestrogene ist noch nicht geklärt. Um einen Hinweis für die Größe der Sekretion zu bekommen, sollen in der vorliegenden Arbeit die Konzentrationen von Oestron und Oestradiol in den für ihre Produktion in Frage kommenden Organen, den Ovarien und Hoden sowie den Nebennieren, von Säuglingen und Kleinkindern bestimmt werden.

Bisher wurden Gewebespiegel von Oestrogenen in fetalen Gonaden und Nebennieren (Reyes et al. 1973) und in Hoden (Goldzieher und Roberts 1952, Leinonen 1980) und in Follikelflüssigkeit Erwachsener (Smith 1960, Short und London 1961, Baird und Fraser 1975) bestimmt. Eine Arbeit liegt über Oestrogenkonzentrationen in der Follikelflüssigkeit

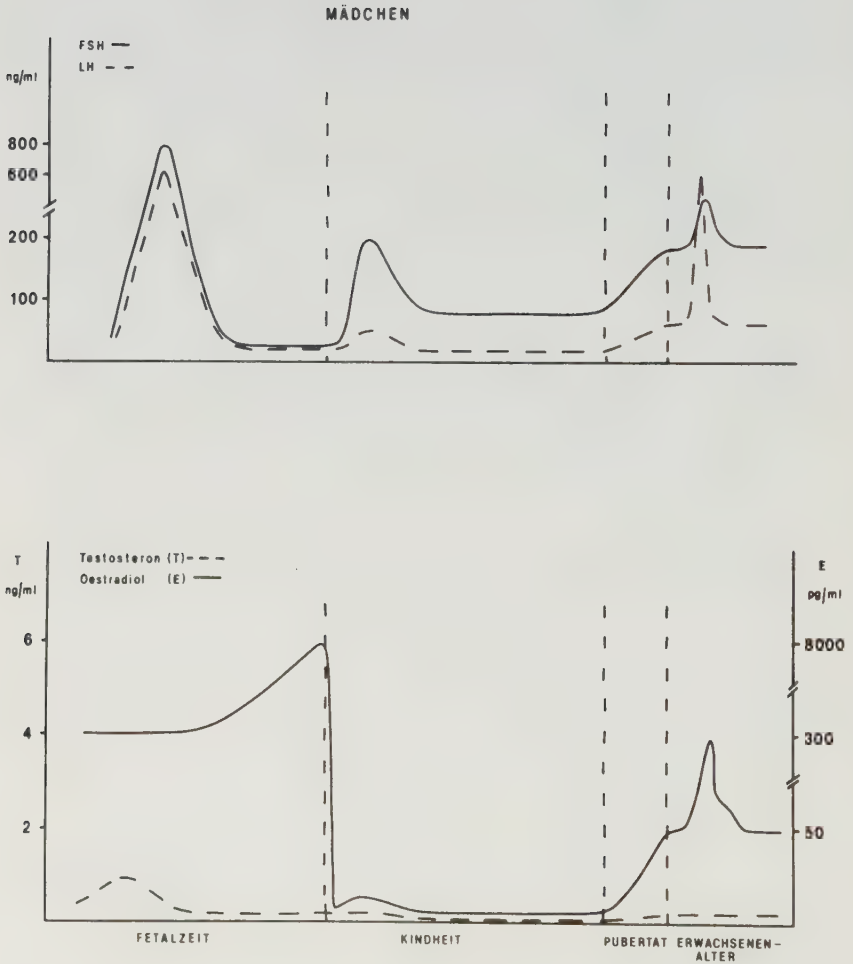


Abb. 1: Mittlere Plasmakonzentrationen von LH (LER 907), FSH (LER 907), Oestradiol und Testosteron während der prä- und postnatalen Entwicklung beim weiblichen Geschlecht, nach Daten von Clements et al. (1976), Winter et al. (1976), Bidlingmaier und Knorr (1978) und Schnakenburg (1980).

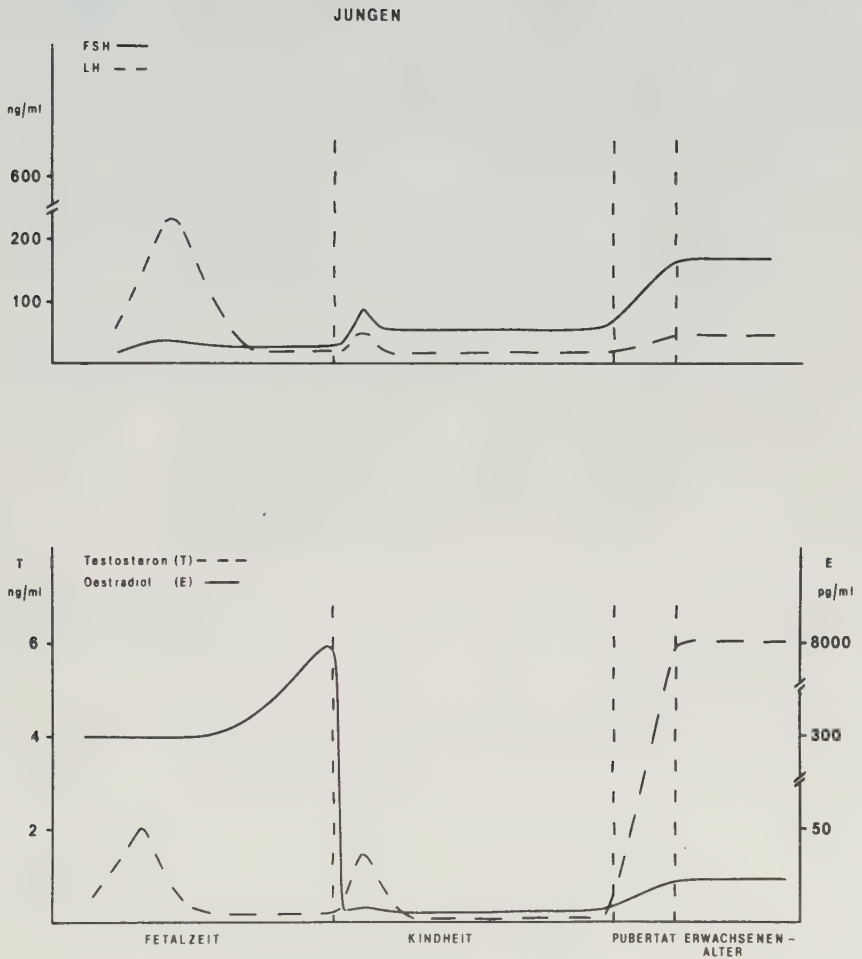


Abb. 2: Mittlere Plasmakonzentrationen von LH(LER 907), FSH (LER 907), Oestradiol und Testosteron während der prä- und postnatalen Entwicklung beim männlichen Geschlecht. Zur Literatur siehe Legende von Abb. 1.

von Säuglingen vor (Channing 1984). Über die Oestrogenkonzentrationen in Hoden und Nebennieren sowie in ganzen Ovarien von Säuglingen und Kleinkindern ist nichts bekannt.

1.2. Fragestellungen

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit sollen zur Beantwortung folgender Fragen beitragen:

- 1) Stammen die vorübergehend erhöhten Oestrogenkonzentrationen im Plasma weiblicher Säuglinge tatsächlich aus den Ovarien?
- 2) Stammen die erhöhten Oestrogenkonzentrationen im Plasma männlicher Säuglinge aus den Hoden?
- 3) Welche Bedeutung hat die Nebennierenrinde für die Oestrogenproduktion von Säuglingen und Kleinkindern?
- 4) Sind fetale Ovarien zur Oestrogensynthese fähig?

2. Experimenteller Teil

2.1. Reagentien

Pufferlösung: 2,686 g KH_2PO_4 (Merck, Darmstadt)
 8,356 g NaHPO_4 2 H_2O (Merck, Darmstadt)
 0,325 g NaN_3 (Merck, Darmstadt)
 1,0 g Rinderglobulin (Behringwerke)
 Aqua bidest. ad 1000 ml

Dextran-Aktivkohle-Suspension:

0,5 g Norit A (Feinbiochemica, Heidelberg)
 0,05 g Dextran T 70 (Pharmacia, Uppsala)
 Pufferlösung ad 100 ml

Organische Lösungsmittel:

Toluol pro analysi (Baker Chemicals, Deventer Holland)
 Methanol pro analysi (Merck, Darmstadt)
 Isooctan pro analysi (Merck, Darmstadt)
 Aether pro narcosi (Hoechst, Frankfurt a.M.)
 Dichlormethan pro analysi (Merck, Darmstadt)
 Tetrachlorkohlenstoff
 pro analysi (Merck, Darmstadt)

Säulenchromatographie:

Sephadex LH 20 (Pharmacia, Uppsala)

Standardsubstanzen:

17 β -Oestradiol: Oestra- 1,3,5 (10) trien, 3,17 β diol
 Oestron: Oestra- 1,3,5 (10) trien, 3 ol, 17 on
 (beide: Sigma, St. Louis)
 Cortisol (Schering, Berlin)

Tracersubstanzen:

1,2,6,7 - ^3H Cortisol (86 Ci/mmol)
 2,4,6,7 - ^3H Oestradiol (89 Ci/mmol)
 2,4,6,7 - ^3H Oestron (92 Ci/mmol)
 (alle: Radiochemical Centre Amersham)

Szintillationsflüssigkeit:

Quickszint 212 (Zinsser, Frankfurt a.M.)

2.2. Experimenteller Ansatz

In den Laboratorien der Kinderklinik der Universität München bewährte spezifische Methoden zur radioimmunologischen Bestimmung von Oestron und Oestradiol im Plasma (Bidlemaier und Knorr 1978) wurden auf ihre Eignung zur Bestimmung von Hormonkonzentrationen im Gewebe überprüft und zu Untersuchungen über die Herkunft der Oestrogene im frühen Kindesalter verwendet.

Von einer großen Zahl an plötzlicher Todesursache verstorbener Säuglinge und Kleinkinder wurden Ovarien bzw. Hoden sowie die Nebennieren auf ihren Gehalt an Oestron und Oestradiol untersucht. Aus dem Herzblut, das von den Mädchen zur Verfügung stand, wurden die Oestrogen- und Cortisolkonzentrationen bestimmt und mit den Normalwerten dieser Plasmasteroide verglichen.

2.3. Methoden

2.3.1. Herstellung und Charakterisierung der Antiseren

2.3.1.1. Herstellung der Antiseren

Für die radioimmunologischen Hormonbestimmungen wurden in den Laboratorien der Kinderklinik der Universität München hergestellte Antiseren verwendet. Dies hat sich nicht nur wegen der geringen Kosten als besonders günstig erwiesen, sondern auch wegen der Möglichkeit, alle Untersuchungen mit einheitlichen Antiserumchargen durchzuführen, die in ihren Spezifitäten und Bindungseigenschaften konstant blieben.

Die zur Immunisierung verwendeten Antigene waren durch Kopplung von Oestradiol über die C-17-Position bzw. Cortisol über die C-3-Position an Rinderserumalbumin nach Methoden hergestellt worden, wie sie zuerst von Erlanger et al. (1957) beschrieben wurden. Mit diesen Steroid-Protein-Konjugaten wurden Neuseeländer Kaninchen immunisiert.

2.3.1.2. Charakterisierung der Antiseren

Für die folgenden Untersuchungen wurde unter den hochtitrigen Antiseren jeweils das mit der höchsten Spezifität gegenüber Oestradiol bzw. Cortisol verwendet. Das Antiserum gegen Oestradiol band Oestron

mit annähernd gleicher Affinität wie Oestradiol, so daß das Antiserum zur Bestimmung beider Oestrogene verwendet werden konnte.

Der Titer der Antiseren wurde als die Verdünnung definiert, bei der unter unseren Assaybedingungen von 1 ml Antiserum-Lösung 28 pg ^3H -Oestradiol bzw. 100 pg ^3H -Cortisol gebunden werden. Dies entsprach jeweils einer Bindung von 50 % des vorgelegten radioaktiv markierten Steroids.

Die Spezifität der Antiseren wurde an Hand der Verdrängung von ^3H -Oestradiol bzw. ^3H -Cortisol vom Antikörper durch steigende Mengen physiologisch relevanter Steroide getestet. Als Maß für die Spezifität wurden hieraus die prozentualen Kreuzreaktionen nach der Methode von Abraham (1974) errechnet. Dabei wurde die Reaktion des Steroids, für dessen Messung das Antiserum produziert worden war, als 100 % angesetzt. Eine Zusammenstellung von Titern und Kreuzreaktionen der verwendeten Antiseren zeigt Tabelle 1.

2.3.2. Untersuchungsmaterial

Gewebekonzentrationen von Oestron und Oestradiol wurden in den Ovarien von 50 plötzlich verstorbenen Mädchen im Alter von 0 Tagen bis 7 Jahren gemessen. Ebenso wurde die Gewebekonzentration dieser Steroide in jeweils einem Hoden von 64 plötzlich verstorbenen Jungen im Alter zwischen 3 Wochen und 24 Monaten bestimmt. Todesursache war entweder plötzlicher Kindstod oder Unfall. In keinem Fall hatte vor dem Tode ein Hinweis auf eine Erkrankung bestanden. Alle Kinder entsprachen in Reife, Länge und Gewicht ihrem Alter. Der Zeitraum zwischen Tod und Obduktion war in der Regel kürzer als 24 Stunden. Von allen Jungen wurde willkürlich der rechte oder linke Testikel, von den Mädchen beide Ovarien für unsere Untersuchungen verwendet.

Die Gewebekonzentrationen von Oestron und Oestradiol wurden auch in den Nebennieren von 18 der oben beschriebenen Mädchen und von 16 der oben beschriebenen Jungen ermittelt. Alle Organe wurden bis zur Analyse bei -80°C aufbewahrt.

Von allen verstorbenen Mädchen und einigen Jungen stand auch das Herzblut zur Verfügung, das ebenfalls auf seine Konzentration an Oestron und Oestradiol sowie - als Streßparameter - auch an Cortisol untersucht wurde.

Tab. 1: Titer und Kreuzreaktionen (in %) der Antiseren

	Anti- Oestradiol 1:2300	Anti- Cortisol 1: 10000
Oestradiol	100	< 0,01
Oestron	76	< 0,01
Oestriol	32	< 0,01
Testosteron	< 0,05	< 0,01
Androstendion	< 0,05	< 0,01
Progesteron	< 0,05	0,5
17-OH-Progesteron	< 0,05	1
Aldosteron	< 0,05	0,1
Cortisol	< 0,05	100
Cortison	-	10
Corticosteron	-	2,5
Desoxycorticosteron	< 0,05	1

Weiterhin wurde die Gewebekonzentration in den Gonaden von 5 weiblichen und 4 männlichen Feten bestimmt. Die Schwangerschaften waren entweder durch intrauterinen Fruchttod oder durch Interruptio aus medizinischer Indikation beendet worden.

2.3.3. Bestimmung von Oestron, Oestradiol und Cortisol

2.3.3.1. Homogenisierung der Gewebe

Ovarien und Testikel wurden von umgebenden Hüllen, Fettgewebe und Gefäßen befreit. Der Hoden wurde vom Nebenhoden getrennt, und nach dem Wiegen wurden die Gonaden mit einem scharfen Skalpell auf einer Glasplatte zerkleinert. Bei den Ovarien wurde darauf geachtet, daß keine Follikelflüssigkeit verloren ging. Die Gewebestückchen und die -flüssigkeit wurden in Portionen von etwa 100 mg mit jeweils 0,5 ml kaltem destilliertem Wasser in Eppendorf-Reagiergefäße ge-

spült und unter Kühlung mit dem Ultraschall-Homogenisator "Sonifier B-10" (Branson Sonic Power Company, Danbury, USA) zerkleinert. Die homogenisierten Portionen jeweils einer Gonade wurden vereinigt und mit destilliertem Wasser so aufgefüllt, daß 1 ml Homogenat 150 mg Gewebe enthielt. Alle Hantierungen mit dem Gewebe wurden rasch in der Kälte verrichtet, um eine Metabolisierung der Steroide zu vermeiden.

Die Nebennieren wurden ebenfalls nach der Entfernung von anhängendem Gewebe gewogen und mit einem Skalpell zerkleinert. Der Gewebebrei wurde mit destilliertem Wasser in einem Glas-Teflon-Homogenisator (Reichert Chemie Technik, Heidelberg) gespült und unter Kühlung rasch homogenisiert. Das Homogenat der Nebennieren wurden mit destilliertem Wasser so verdünnt, daß 1 ml 200 mg Gewebe enthielt.

2.3.3.2. Vorbereitung der Plasma- und Gewebeproben zur Bestimmung von Oestron und Oestradiol

Je nach erwarteter Hormonkonzentration wurden 0,25 bis 1 ml Plasma bzw. Gewebehomogenat mit destilliertem Wasser auf etwa 4 ml verdünnt und zur Kontrolle von Extraktions- und Reinigungsverlusten mit je 1400 cpm ^3H -Oestron und ^3H -Oestradiol versetzt. Die Steroide wurden mit 2 x 10 ml Aether pro narcosi extrahiert. Die Aetherextrakte wurden mit 10 ml destilliertem Wasser gewaschen und unter einem leichten Luftstrom bei 40°C abgedampft.

Die weitere Reinigung der Extrakte erfolgte durch Chromatographie an Sephadex LH 20 mit Isoctan - Methanol - Toluol im Verhältnis 31 : 9 : 10 als Laufmittel. Es wurden mit Glasfritten versehene Glassäulen mit einem Innendurchmesser von 0,8 cm verwendet. Das Gelbett hatte eine Höhe von 13 cm. Die Oestron- und die Oestradiolfraktion - jeweils 3,5 bzw. 6 ml - wurden getrennt aufgefangen und unter leichtem Luftstrom getrocknet.

Die trockenen Rückstände wurden in 250 µl Assaypuffer gelöst und über Nacht bei 4°C stehengelassen. 2 x 100 µl dieser Lösung wurden für einen Doppelansatz in den Radioimmunoassay genommen; 25 µl dienten zur Kontrolle der radioaktiven Wiederfindung.

2.3.3.3. Behandlung der Standards in den Oestrogenassays

Aus Standardlösungen mit verschiedenen, definierten Konzentrationen an Oestron und Oestradiol, die in Assaypuffer gelöst waren, wurden je 250 µl in Röhrchen pipettiert, in denen vorher 3,5 bzw. 6 ml "steroidfreies" Laufmittel, das vor der Chromatographie der Extrakte über die Säulen gelaufen war, abgedampft worden war. Nach Schütteln und längerem Stehenlassen wurden jeweils 2 x 100 µl dieser Standardlösungen, die nun weitgehend dieselben von Laufmittel und Chromatographie-Gel stammenden Störsubstanzen enthielten wie die Proben, in frische Röhrchen pipettiert und im weiteren Verlauf wie die Proben im Radioimmunoassay behandelt. Auf diese Weise wurde eine Standardkurve mit den Werten, 0, 10, 25, 50, 75, 100, 125 und 150 pg erhalten.

2.3.3.4. Durchführung des Oestrogen-Radioimmunoassays

Zu den in 100 µl gelösten Oestrogen-Fraktionen, Oestron und Oestradiol, wurden je 500 µl mit Assaypuffer verdünntes Antiserum und je 13 000 cpm ^3H -Oestron bzw. ^3H -Oestradiol in 100 µl Puffer pipettiert. Nach kurzem Schütteln wurde das Gemisch 2 Stunden in Eiswasser inkubiert. Anschließend erfolgte die Trennung der freien von den antikörpergebundenen Steroiden mit 500 µl Kohle-Dextran-Gemisch in Assaypuffer. Nach erneuter Inkubation von 10 Minuten Dauer in Eiswasser wurde 15 Minuten bei nahe 0°C mit 1 800 x g zentrifugiert. Der Überstand, der die antikörpergebundenen Oestrogene enthielt, wurde in Zählröhrchen mit 8 ml Szintillatorflüssigkeit dekantiert und bis zur Akkumulation von 20 000 Counts gezählt. Die Standardkurve wurde konstruiert, indem die Counts pro Minute gegen die Menge von Oestron bzw. Oestradiol in den Standards aufgetragen wurden. Bei der Berechnung der Gewebe- und Plasmakonzentrationen wurde die radioaktive Wiederfindung berücksichtigt.

2.3.3.5. Bestimmung von Cortisol in Plasma

Zur Bestimmung des Cortisols wurden 10 - 25 µl Plasma mit 1 ml destilliertem Wasser verdünnt und zur Kontrolle von Extraktionsverlusten mit ca. 1200 cpm ^3H -Cortisol versetzt. Nach ca. einstündiger Äquilibrierphase wurde mit 4 ml Dichlormethan extrahiert. Die weitere

Reinigung des Cortisols wurde durch Lösungsmittelverteilung nach Pham-Huu-Trung (1973) mit Wasser und Tetrachlorkohlenstoff erreicht.

Die Quantifizierung des Cortisols erfolgte radioimmunologisch mit dem beschriebenen Antiserum analog der Methode zur Bestimmung von Oestron bzw. Oestradiol.

2.3.4. Charakterisierung der Methoden

2.3.4.1. Wiederfindung

Die Zugabe von 1400 cpm tritierter Steroide zu den Proben vor der Extraktion diente der Kontrolle von Verlusten während der Reinigungsschritte.

Die Wiederfindung lag bei Ovar- und Plasmaproben zwischen 70 % und 90 %. Sie wurde für jede Probe einzeln ermittelt und bei der Berechnung der Analysenergebnisse entsprechend berücksichtigt.

Die Wiederfindung der ^3H -Oestrogene bei den Nebennierenproben war unbefriedigend. Sie lag zwischen 10 % und 60 % mit einem Schwerpunkt zwischen 40 % und 50 %. Verursacht wurde die schlechte Wiederfindung durch eine ungenügende Extraktion der ^3H -Oestrogene aus den lipidreichen Nebennieren durch Aether.

Durch umfangreiche Versuche konnte keine Verbesserung erreicht werden. Weder Detergenzien, die aufgrund der Vermutung, daß der hohe Fettanteil der Nebenniere die Extraktion der Oestrogene behindere, verwendet wurden, noch die Erhöhung der Anzahl der Aetherextraktionen, noch die Extraktion mit polarerer Lösungsmitteln wie z.B. Methanol verbesserten die Wiederfindung.

Es wurde deshalb doch nach der beschriebenen Methode verfahren und die Ergebnisse wurden verwendet, wenn die Wiederfindung über 35 % lag, was insofern gerechtfertigt ist, als befriedigende und unbefriedigende Wiederfindungen gleichmäßig bei Nebennieren von Kindern aus allen Altersstufen gefunden wurden.

2.3.4.2. Chromatographische Trennung der Oestrogene

Die Spezifität der Methoden hängt in großem Maße von der Spezifität der Antisera ab. Sie wird durch die verwendeten Reinigungs- und Trennmethoden erheblich gesteigert. Unspezifische Störstoffe wie die Lipide werden weitgehend eliminiert, und ein großer Teil der adrenalen und gonadalen Steroide, die mit den Antikörpern mehr oder weniger kreuzreagieren können, wird abgetrennt. Insbesondere ermöglicht die Chromatographie an Sephadex LH 20 eine scharfe Trennung von Oestron und Oestradiol (Abb. 3) ohne Überschneidung der Fraktionen, was notwendig ist, weil der verwendete Antikörper mit beiden Steroiden ungefähr gleich stark reagiert.

2.3.4.3. Empfindlichkeit und Präzision der Methoden

Jede Testreihe wurde kontrolliert, indem ein Ansatz mit destilliertem Wasser, eine Probe mit 100 pg beider Oestrogene in Assaypuffer, sowie eine oder mehrere Proben eines Plasmapools in jeder Testreihe mitbestimmt wurden.

Aus den mittleren Reagenzienleerwerten plus 2 Standardabweichungen errechnet sich für Oestron und Oestradiol eine untere Nachweisgrenze von 4 pg pro Probe und für Cortisol von 0,3 µg/dl.

Die Variabilität der Ergebnisse mehrfacher Messungen eines Plasmapools innerhalb einer Testserie (intraassay) und die sich aus der Mitführung der gleichen Kontrollproben in jedem Assay ergebende Tag-zu-Tag-Variation (interassay) gehen aus den Tabellen 2 und 3 hervor.

2.3.4.4. Präzision der Messung von Gewebekonzentrationen

Die gemessenen Gewebekonzentrationen waren unabhängig von der Menge des eingesetzten Homogenats. Die Ergebnisse der Bestimmungen aus 100, 250 und 500 µl Gewebehomogenates lagen parallel zur Standardkurve.

Einige Gewebeproben wurden zweimal in verschiedenen Testserien bestimmt. Hierbei wurde der Variationskoeffizient nach der Methode von Snedecor (1952) bestimmt:

$$s = \frac{\sqrt{\sum (x_1 - x_2)^2}}{2n}$$

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 gezeigt. Die Variationskoeffizienten für die Bestimmung aus den Geweben sind deutlich höher als die der Plasmaanalysen. Dies entspricht den Erfahrungen in der Literatur (Hoffmann et al. 1975).

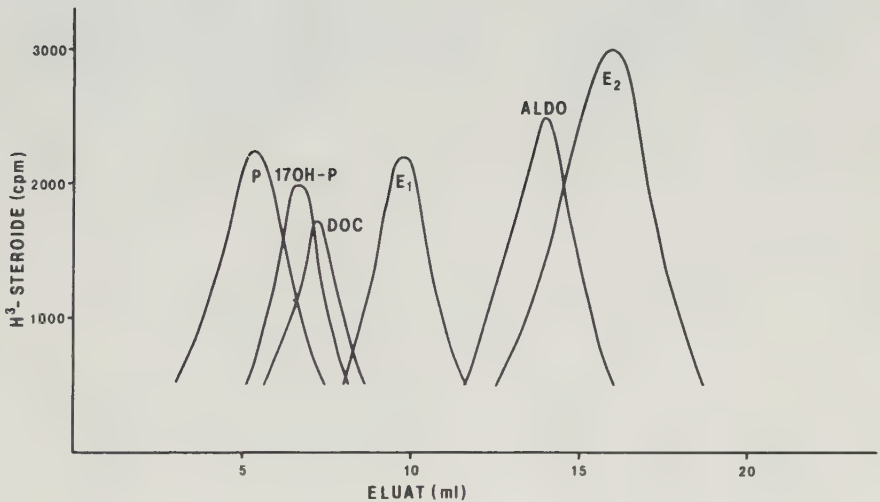


Abb. 3: Elutionsdiagramm für die chromatographische Trennung an Sephadex LH 20 mit Isooctan/Methanol/Toluol (31/9/10). E₁ = Oestron, E₂ = Oestradiol, P = Progesteron, 17 OH-P = 17-Hydroxyprogesteron, DOC = 11-Desoxycorticosteron, ALDO = Aldosteron.

Tab. 2: Variabilität innerhalb der Testserie (intraassay)

		Zahl der Messungen	Mittlere Konzentration	Variations- koeffizient
Oestron	(Plasma)	6	48 pg/ml	11 %
Oestradiol	(Plasma)	6	49 pg/ml	11 %
Cortisol	(Plasma)	10	23 ng/ml	11 %
		10	108 ng/ml	6 %

Tab. 3: Variabilität von Tag zu Tag (interassay)

		Zahl der Messungen	Mittlere Konzentration	Variations- Koeffizient
Oestron	(Plasma)	57	46 pg/ml	14 %
	(Zugabe: 100 pg)	22	100 pg/ml	8 %
Oestradiol	(Plasma)	57	49,4 pg/ml	11 %
	(Zugabe: 100 pg)	19	99 pg/ml	7 %
Cortisol	(Plasma)	67	21 ng/ml	13 %
	(Plasma)	67	107 ng/ml	6,3 %

Tab. 4: Doppelbestimmungen von Gewebeproben

Gewebe	Steroid	Zahl der Bestimmungen	Standardabweichung	Variationskoeffizient
Ovar	Oestron	9	437 pg/g	27 %
	Oestradiol	9	2298 pg/g	17 %
Nebenniere	Oestron	20	817 pg/g	29 %
	Oestradiol	11	1053 pg/g	44 %
Hoden	Oestron	9	120 pg/g	20 %
	Oestradiol	9	356 pg/g	29 %

2.3.4.5. Statistische Methoden

Da die Plasma- und Gewebekonzentrationen der gemessenen Steroide in den einzelnen Altersgruppen im allgemeinen nicht normalverteilt waren, wurden die "Normalwerte" durch Median und Bereich charakterisiert. Statistische Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden nach dem U-Test (Wilcoxon, Mann und Whitney), Vergleiche zwischen mehreren Gruppen nach dem nichtparametrischen Rang-Test von Kruskal und Wallis durchgeführt. Bei Normalverteilung und Varianzengleichheit wurde auch der Student-t-Test verwendet. Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen zweier Steroide wurden durch Prüfung der linearen Regression analysiert. P-Werte unter 0.05 wurden als signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1. Oestron, Oestradiol und Cortisol im Plasma von an plötzlicher Todesursache verstorbenen Mädchen

Abbildung 4 zeigt die individuellen Konzentrationen von Cortisol, Oestron und Oestradiol im Plasma der verstorbenen Säuglinge und Kinder im Vergleich zu den jeweiligen Normbereichen (Bidlemaier und Knorr 1978).

Etwa die Hälfte der Cortisolkonzentrationen der verstorbenen Kleinkinder lag oberhalb der Norm in einem Bereich, der für Stress typisch ist.

Überraschenderweise lagen auch die Oestron- und Oestradiolkonzentrationen fast aller verstorbenen Kinder weit über den Werten gesunder Kinder. Die mittlere Oestronkonzentration betrug das 14 fache, die mittlere Oestradiolkonzentration das 11 fache der Norm. Die bei gesunden Kindern typische Erhöhung der Oestrogene im ersten Lebenshalbjahr ist bei den verstorbenen Kindern nicht erkennbar.

Die Plasmakonzentrationen des Oestrone waren eng ($p < 0,0001$) mit denen des Oestradiol korreliert, während keine Korrelation der Oestrogene mit den Cortisolkonzentrationen zu zeigen war.

3.2. Gewebeuntersuchungen

3.2.1. Ovar

3.2.1.1. Ovargewichte

Die Ovargewichte streuen weit zwischen 0,2 und 4,2 Gramm. Abbildung 5 zeigt die aus rechtem und linkem Ovar addierten Gewichte. Es ist eine deutliche Altersabhängigkeit zu erkennen. Relativ eng beieinander und niedrig liegen die Werte in den ersten vier Lebenswochen (Median: 0,57 g, Bereich: 0,19 - 0,92 g). Im Alter von 1 bis 6 Monaten sind die Ovargewichte deutlich höher (Median: 1,41 g, Bereich: 0,36 - 4,2 g) mit den größten Gewichten im 3. und 4. Monat. Wegen der geringen Anzahl der Proben in der ersten Gruppe läßt sich jedoch ein signifikanter

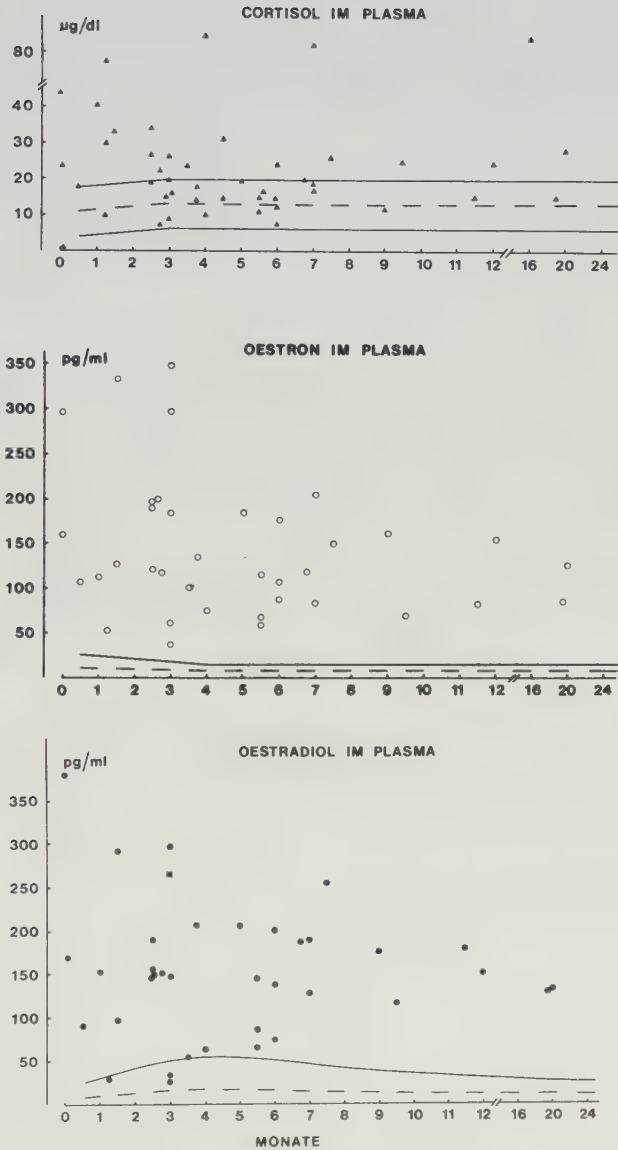


Abb. 4: Konzentrationen von Cortisol, Oestron und Oestradiol im Plasma von an plötzlicher Todesursache verstorbenen weiblichen Säuglingen im Vergleich zum Normalbereich (gestrichelt = Median; ausgezogen = obere und untere Normgrenze).

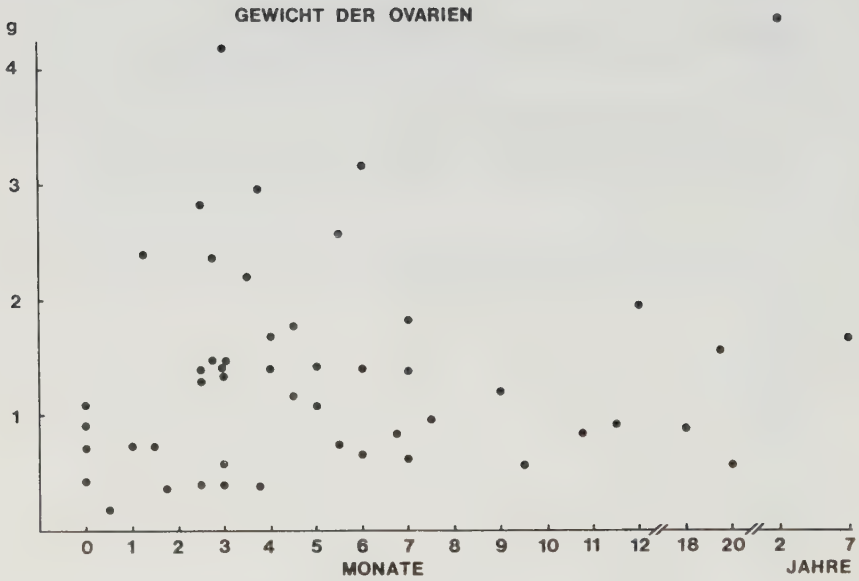


Abb. 5: Ovargewichte: Es wurden die aus rechtem und linkem Ovar addierten Gewichte dargestellt. Die Ovarien waren vom Mesovar befreit.

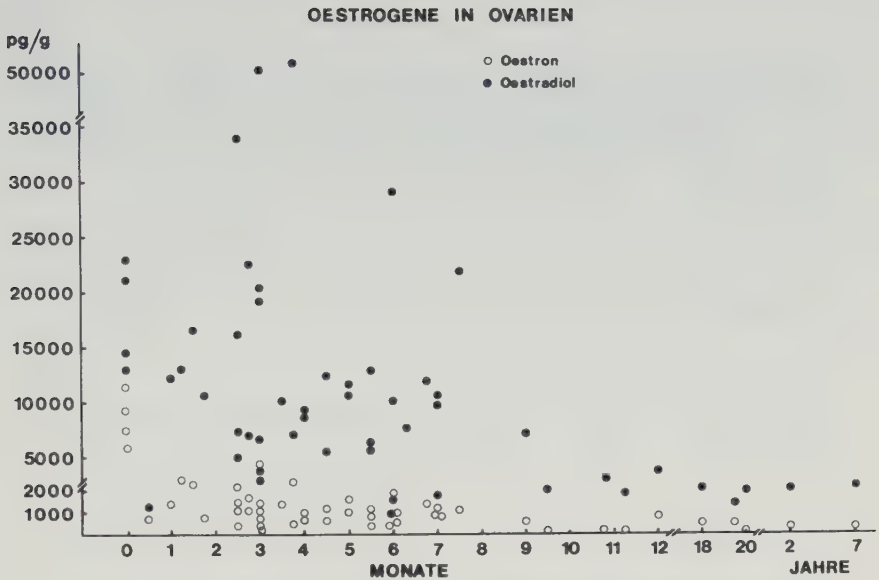


Abb. 6: Konzentration von Oestron und Oestradiol im Ovar. Die Konzentrationen wurden als Durchschnitt aus dem Gewicht und dem Oestrogengehalt beider Ovarien errechnet.

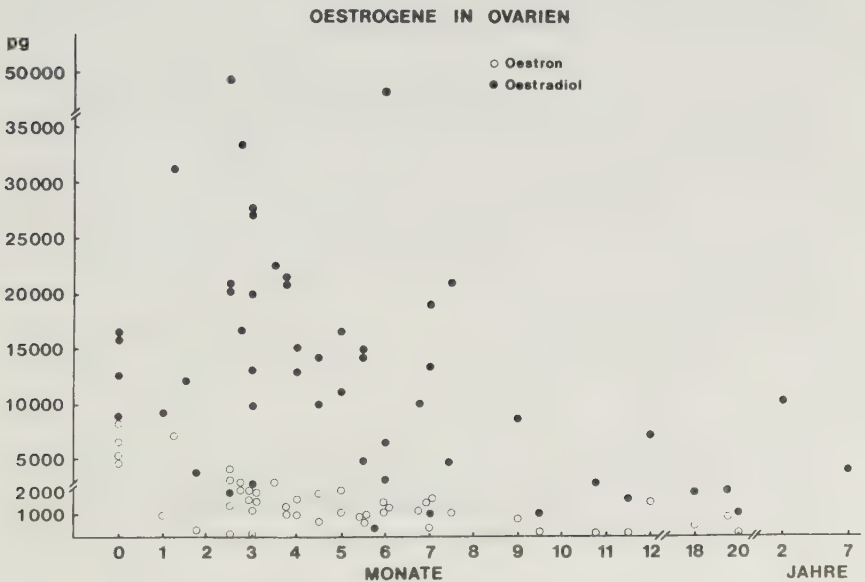


Abb. 7: Oestrogengehalt im Ovar. Es wurde der aus rechtem und linkem Ovar addierte Gehalt dargestellt.

Unterschied zwischen den beiden Altersgruppen nicht errechnet. Nach dem 6. Monat nimmt das Ovargewicht wieder ab. Die Werte der 6 bis 24 Monate alten Mädchen (Median: 0,95 g, Bereich: 0,56 – 1,93 g) sind aber nicht signifikant niedriger als die der 1 bis 6 Monate alten und bleiben höher als die der Neugeborenen. Bei der Präparation der Ovarien ergab sich der Eindruck, daß das hohe Ovargewicht der 1 bis 6 Monate alten Mädchen vor allem von dem Vorkommen bis zu 5 mm großer flüssigkeitsgefüllter Zysten verursacht wurde.

3.2.1.1. Oestrogene im Ovargewebe

Die Oestrogenkonzentrationen wurden als Durchschnittswerte beider Ovarien angegeben (Abb. 6). Die Oestradiolkonzentrationen im Ovargewebe zeigten einen sehr ähnlichen Verlauf wie im Plasma gesunder Kinder. Maximale Werte wurden im 3. und 4. Monat gefunden, wobei jedoch – ähnlich wie im Plasma – eine weite Streuung zu beobachten war.

Im Alter von 1 bis 6 Monaten lagen die Oestradiolkonzentrationen im Ovargewebe (Median: 10500 pg/g, Bereich: 990 – 55000 pg/g) signifikant höher ($p < 0,005$) als bei Kindern von 6 bis 24 Monaten (Median: 2350 pg/g, Bereich: 1400 – 22100 pg/g). 1 Gramm Ovargewebe enthielt durchschnittlich 400 mal mehr Oestradiol als 1 ml Plasma gesunder Kinder.

In fast allen Ovarien war auch Oestron nachweisbar, die Konzentrationen waren jedoch stets niedriger als die des Oestradiols. Auch beim Oestron lagen die Werte vom 1. bis 6. Monat (Median: 1100 pg/g, Bereich: 340 – 4400 pg/g) höher als bei Kindern von 6 bis 24 Monaten (Median: 605 pg/g, Bereich: 0 – 1250 pg/g). Der Unterschied der beiden Altersgruppen war signifikant ($p < 0,01$). 1 Gramm Ovargewebe enthielt durchschnittlich 100 mal mehr Oestron als 1 ml Plasma gesunder Kindern.

Die Oestradiolkonzentrationen waren durchschnittlich 10 mal so hoch wie die des Oestrons. Die Konzentrationen beider Oestrogene im Ovar waren eng korreliert.

Auffällig war, daß – anders als beim Oestradiol – die höchsten Konzentrationen des Oestrons in den Ovarien der jüngsten Säuglinge, die bei bzw. kurz nach der Geburt verstarben, gefunden wurden. Die Konzentration des Oestrons betrug hier etwa die Hälfte der des Oestradiols.

In Abbildung 7 wurde der gesamte Gehalt beider Ovarien an Oestrogenen dargestellt, der sich aus Konzentrationen und Organgewicht ergibt. Es ergibt sich ein ähnliches Bild wie bei der Darstellung der Konzentrationen.

3.2.2. Hoden

3.2.2.1. Hodengewichte

Die Hodengewichte zeigten einen kräftigen Anstieg während der ersten 5 Lebensmonate (Abb. 8). Während dieser Zeit kam es nahezu zu einer Verdopplung des Gewichtes, danach blieb das Gewicht für die Dauer der bis zum Ende des 2. Lebensjahres reichenden Beobachtungsperiode konstant.

3.2.2.2. Oestrogene im Hodengewebe

Die Oestrogenkonzentrationen im Hodengewebe (Abb. 9) zeigten einen ähnlichen Verlauf wie die Testosteron- und Oestrogenkonzentrationen im Plasma gesunder männlicher Säuglinge. Allerdings stand uns bei den Untersuchungen Material von Neugeborenen nicht zur Verfügung, so daß über sie keine Aussagen gemacht werden können.

Maximale Oestradiolkonzentrationen wurden im Alter von 1 bis 3 Monaten erreicht (Median: 1816 pg/g, Bereich: 630 - 6400 pg/g). Im Alter von 3 bis <6 Monaten lagen die Werte bereits signifikant ($p < 0,01$) niedriger als bei den jüngeren Säuglingen (Median: 1000 pg/g, Bereich: 770 - 1960 pg/g). Nach dem 6. Monat blieben die Gewebekonzentrationen bis zum Ende der Beobachtungsperiode konstant niedrig (Median: 662 pg/g, Bereich: 374 - 1400 pg/g). Sie unterschieden sich damit signifikant ($p < 0,002$) von denen der vorangegangenen Altersgruppe. Während der ersten beiden Lebensjahre enthielt 1 Gramm Hodengewebe durchschnittlich etwa 100 mal mehr Oestradiol als 1 ml Plasma gesunder Kinder und nur 1/5 der Ovarkonzentrationen.

In allen Hoden war auch Oestron nachweisbar, jedoch waren die Oestronkonzentrationen in der Regel niedriger als die des Oestradiols. Im Alter von 1 bis 3 Monaten zeigten sich die höchsten Oestronkonzentrationen (Median: 760 pg/g, Bereich: 720 - 2080 pg/g). Nach dem 3. Monat lagen die Konzentrationen niedriger (Median: 600 pg/g, Bereich: 181 - 1319 pg/g), jedoch war der Unterschied

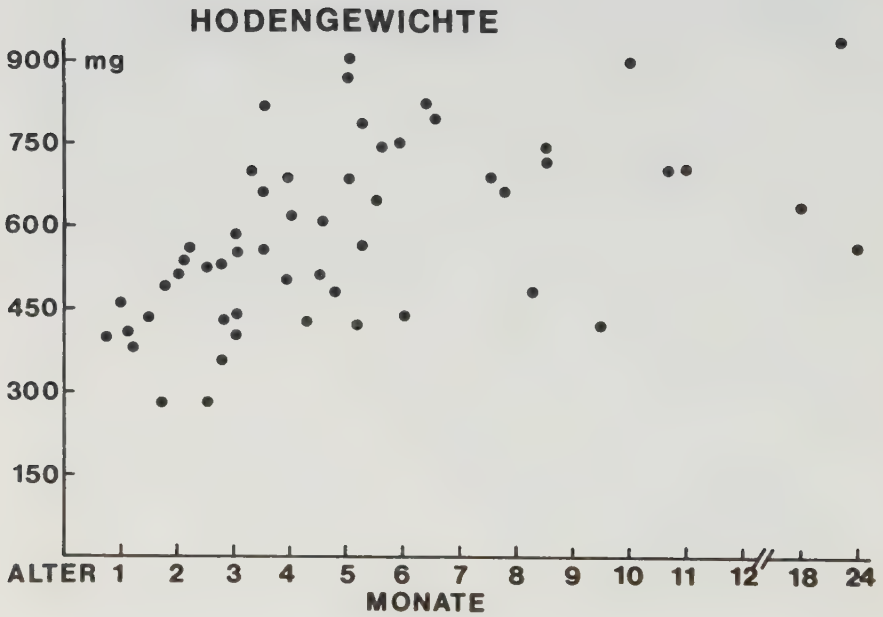


Abb. 8: Hodengewichte: Es ist von jedem Jungen nur das Gewicht des biochemisch untersuchten Hodens angegeben.

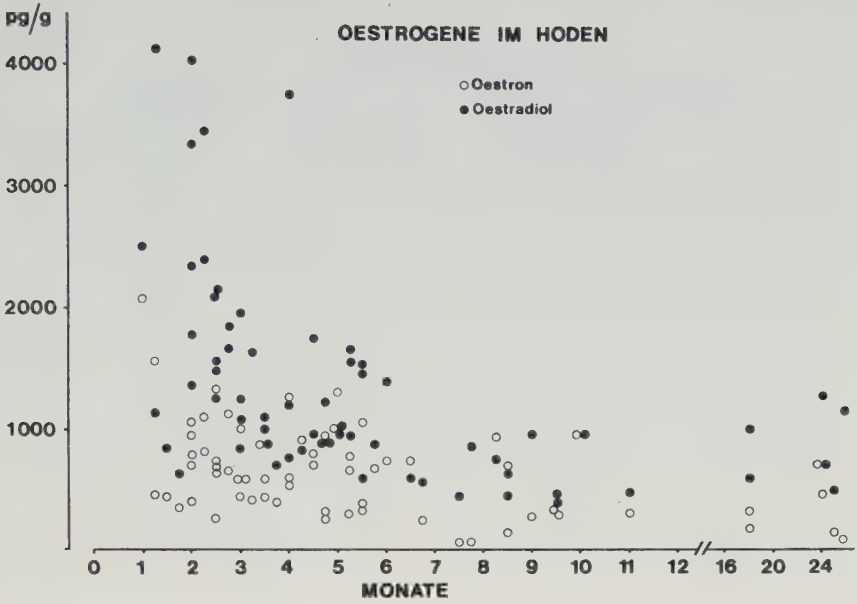


Abb. 9: Konzentrationen von Oestron und Oestradiol im Hoden.
Es wurde nur jeweils ein Hoden biochemisch untersucht.

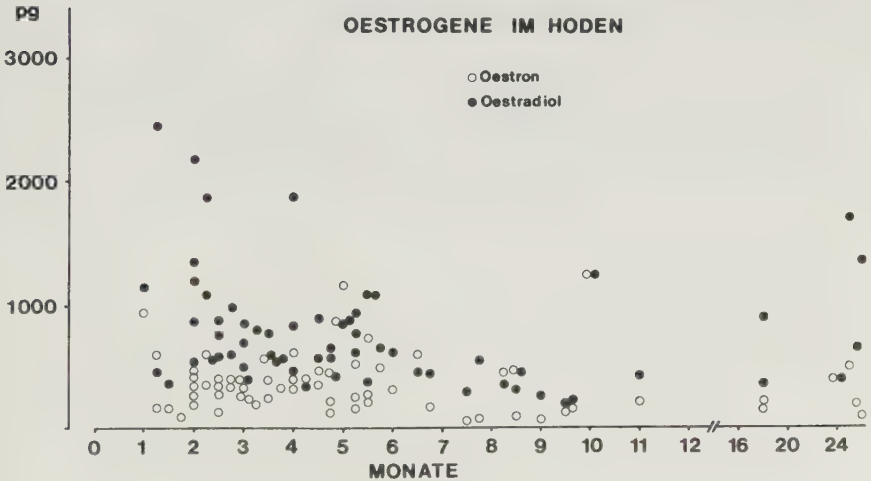


Abb. 10: Oestrongehalt im Hoden. Es wurde nur der Gehalt des
biochemisch untersuchten Hodens angegeben.

nicht signifikant. Nach dem 6. Monat lag das Oestron signifikant ($p < 0,02$) niedriger und blieb unverändert niedrig bis zum Ende der Beobachtungsperiode (Median: 334 pg/g, Bereich: 50 - 950 pg/g). Im Durchschnitt enthielt 1 Gramm Hodengewebe 50 mal mehr Oestron als 1 ml Plasma gesunder Kinder. Verglichen mit dem Ovar betrug die Hodenkonzentration des Oestrone nur die Hälfte. Die Oestradiolkonzentrationen im Hodengewebe korrelierten eng ($p < 0,001$) mit den Oestronkonzentrationen und waren im Durchschnitt 2 mal so hoch.

In einer vorangehenden Arbeit war in einem großen Teil der Hoden die Testosteron- und Androstendionkonzentration bestimmt worden. (Bidlemaier et al. 1983). Beim Vergleich der dort gemessenen Androgene mit den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Oestrogenen ergibt sich für Oestradiol eine engere Korrelation zu Testosteron ($p < 0,001$) als für Oestron ($p < 0,05$) und für Oestron eine engere Korrelation zu Androstendion ($p < 0,001$) als für Oestradiol ($p < 0,05$).

Im Alter von 1 bis 3 Monaten, wenn die Oestrogenkonzentration im Hoden maximale Werte erreicht, sind die Hodengewichte noch kleiner als bei den älteren Säuglingen. Deshalb zeigen sich, wenn man den gesamten Oestrogengehalt im Hoden betrachtet (Abb. 10), nicht so ausgeprägte Maxima im 2. und 3. Lebensmonat. Der Unterschied zu den 3 bis 6 Monate alten Säuglingen ist nicht signifikant. Bis zum 6. Monat nehmen die Werte weiterhin ab, so daß der Oestrogengehalt im Hoden der Säuglinge, die älter als 6 Monate sind, geringer ist als der der jüngeren. Dabei ist für Oestradiol der Unterschied zur Gruppe der 3 bis 6 Monate alten Säuglinge signifikant ($p < 0,05$).

3.2.3. Oestrogene im Nebennierengewebe

Die Oestrogenkonzentrationen in den Nebennieren sind weder vom Alter noch vom Geschlecht abhängig. Die Werte der Mädchen und Jungen wurden deshalb in einer Abbildung dargestellt (Abb. 11). Die durchschnittlichen Konzentrationen von Oestron und Oestradiol sind nahezu gleich.

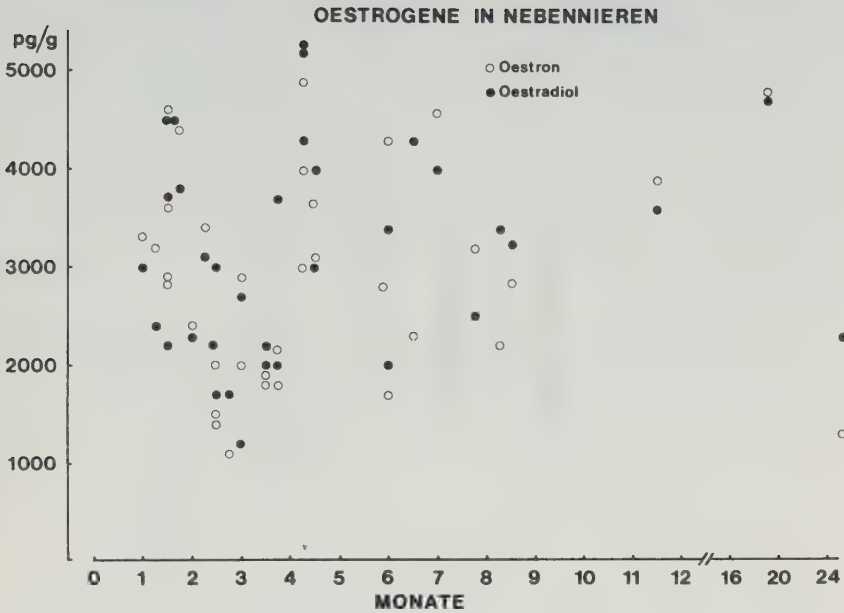


Abb. 11: Konzentrationen von Oestrone und Oestradiol in den Nebennieren von Mädchen und Jungen. Die Konzentrationen wurden als Durchschnitt aus dem Gewicht und dem Oestrogengehalt beider Nebennieren errechnet.

Für Oestradiol beträgt bei den Mädchen der Median aller Messungen 2900 pg/g bei einem Bereich von 1200 bis 4700 pg/g, bei den Jungen 3050 pg/g bei einem Bereich von 1900 bis 5300 pg/g. Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Für Oestrone beträgt bei den Mädchen der Median 2850 pg/g bei einem Bereich von 1100 bis 4800 pg/g, bei den Jungen 2750 pg/g bei einem Bereich von 1300 bis 4600 pg/g.

Sowohl die Oestron- als auch die Oestradiolkonzentrationen in den Nebennieren betragen das 300 fache der Plasmakonzentrationen gesunder Kinder. Sie liegen höher als die des Hodens und werden nur durch die Oestradiolkonzentrationen des Ovars im ersten Lebenshalbjahr übertroffen.

Wenn man den absoluten Gehalt der Oestrogene in den Nebennieren darstellt (Abb. 12 und 13), spiegelt dies den Verlauf der Gewichte der Nebennieren wieder. Die Werte nehmen bis zum 4. Lebensmonat ab und steigen dann allmählich wieder an.

3.2.4. Vergleich der Oestrogengehalte von Ovar, Hoden und Nebenniere

Für die Beurteilung der Herkunft der im Blut zirkulierenden Oestrogene ist der absolute Gehalt im Ovar, Hoden und Nebenniere wahrscheinlich wichtiger als die Konzentration im Gewebe. Daher wurde aus Organgewicht und Gewebekonzentration der absolute Oestrogengehalt für die Organpaare errechnet. Da nur einer der Hoden für die biochemische Analyse zur Verfügung stand, wurde der in ihm ermittelte Wert gedoppelt. Die Altersgruppen in den folgenden beiden Abbildungen wurden so gewählt, daß die vorübergehenden Oestrogenerhöhungen im Ovar und Hoden deutlich werden.

Abbildung 12 zeigt eine Gegenüberstellung der Oestrogengehalte von Ovar und Nebenniere. Der Oestrongehalt der Nebenniere ist stets signifikant höher als der des Ovars. Der Oestradiolgehalt der Nebenniere ist im 3. und 4. Lebensmonat halb so groß wie der des Ovars, in den übrigen Altersstufen ist auch er immer höher als der des Ovars. Ab dem 6. Lebensmonat übertrifft er den des Ovars um ca. das 3 fache.

Abbildung 13 zeigt eine Gegenüberstellung der Oestrogengehalte von Hoden und Nebenniere. Der Oestradiolgehalt der Nebenniere übersteigt den des Hodens um das 8 bis 17 fache, der Oestrongehalt der Nebenniere den des Hodens um das 16 bis 30 fache.

Der Gehalt des Ovars an Oestrogenen ist immer höher als der des Hodens. Der Oestrongehalt ist im Ovar bis zu 2 mal, der Oestradiolgehalt 5 bis 10 mal so hoch wie im Hoden.

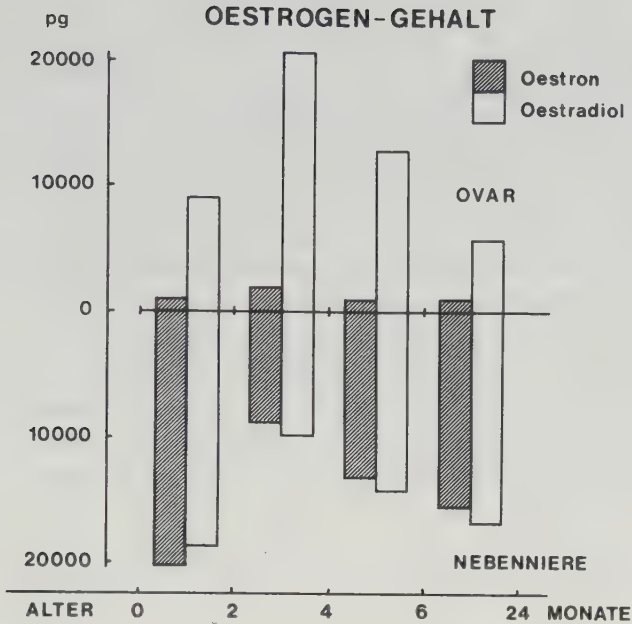


Abb. 12: Vergleich des Oestrogengehaltes von Ovar und Nebenniere weiblicher Kinder. Dargestellt sind die Medianwerte der Organpaare in den verschiedenen Altersgruppen.

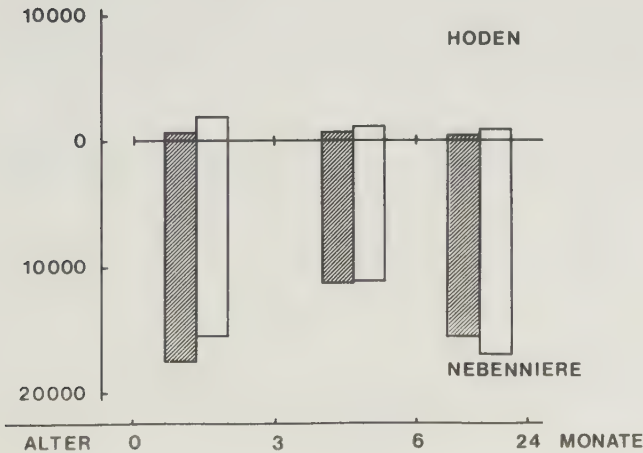


Abb. 13: Vergleich des Oestrogengehaltes von Hoden und Nebenniere männlicher Kinder. Dargestellt sind die Medianwerte der Organpaare in den verschiedenen Altersgruppen.

3.2.5. Oestrogene im Gewebe von fetalen Gonaden

Es wurde der Oestrogengehalt von 4 fetalen Hoden und 5 fetalen Ovarien bestimmt. Die Schwangerschaften waren entweder durch intrauterinen Fruchttod oder durch Interruptio aus medizinischer Indikation zwischen der 20. und 38. Schwangerschaftswoche beendet worden. Wir konnten hohe Oestrogenkonzentrationen in den fetalen Gonaden nachweisen. Dabei waren die Oestron- und Oestradiolkonzentrationen annähernd gleich hoch. Die Konzentrationen in den fetalen Hoden waren mit 10 000 bis 30 000 pg/g wenigstens 5 fach so hoch wie die mittlere Oestradiol- und 12 fach so hoch wie die mittlere Oestronkonzentration in den Hoden der 1 bis 3 Monate alten Säuglinge. Die Konzentrationen in den fetalen Ovarien mit Werten zwischen 2 500 und 60 000 pg/g deckten sich mit dem Bereich der Oestradiolkonzentration der Ovarien im ersten Lebensjahr. Die Oestronkonzentration war in den fetalen Ovarien fast immer höher als in den Ovarien von Säuglingen im ersten Lebensjahr. Allerdings hatten auch die bei der Geburt oder am ersten Lebenstag verstorbenen Säuglinge hohe Oestronkonzentrationen in den Ovarien.

4. Diskussion

4.1. Hypothese und Fragestellung der Arbeit

Man geht im allgemeinen davon aus, daß die Steroide bei Säuglingen und Kindern von denselben Organen sezerniert werden wie bei den Erwachsenen und daß sich nur die absoluten Mengen und die Mengenverhältnisse der sezernierten Steroide unterscheiden. Während des extrauterinen Lebens sind mehrere Prozesse bekannt, die eine Veränderung des Steroidhaushaltes bewirken.

In den ersten Monaten nach der Geburt findet die Involution der fetalen Nebennierenrindenzone und der gleichzeitige Aufbau der permanenten Rindenzone statt. Dies führt zu einer allmählichen Verringerung der adrenalen Androgene Dehydroepiandrosteron, Dehydroepiandrosteronsulfat (de Peretti und Forest 1976 und 1978) und Androstendion im Laufe des 1. Lebensjahres und schon bis zum 3. Lebensmonat zum Erreichen der Cortisolkonzentration im Plasma, die für das weitere Leben konstant bleibt.

Ein anderer Prozeß ist die Adrenarche, die als selektive Steigerung der adrenalen Biosynthese der typischen Nebennierenrinden-Androgene Dehydroepiandrosteron, Dehydroepiandrosteronsulfat und Androstendion definiert ist. Sie beginnt zwischen dem 6. und 8. Lebensjahr mit einer deutlichen Erhöhung der Dehydroepiandrosteron-Sekretion, der 1 bis 2 Jahre später eine entsprechende Erhöhung der Sekretion von Androstendion folgt.

In der Pubertät führt die durch den Anstieg der gonadotropen Hypophysenhormone induzierte Reifung der Gonaden zu einer Erhöhung der gonadalen Steroide.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist eine weitere Veränderung im Steroidhaushalt, die erst seit knapp 15 Jahren bekannt und noch wenig untersucht ist. Sie fällt in die früheste Kindheit. Bei beiden Geschlechtern ist in den ersten Monaten nach der Geburt eine vorübergehende Erhöhung von LH und FSH zu beobachten, die mit einer überraschend starken Erhöhung der Sexualhormone einhergeht. Daß die Hoden die Quelle der vorübergehenden Erhöhung des Testosterons

im Plasma der männlichen Säuglinge sind, zeigt die Beobachtung, daß der Erhöhung der Konzentrationen im Plasma eine starke Erhöhung der Gewebekonzentration des Testosterons im Hoden parallel geht (Bidlingmaier et al. 1983). Das Androstendion dagegen entstammt offensichtlich zum größten Teil der Nebennierenrinde, denn die Gewebekonzentrationen dieses Androgens sind im Hoden zu dieser Zeit niedrig, in der Nebennierenrinde jedoch sehr hoch (Bidlingmaier et al. 1986).

Bisher fehlen Untersuchungen über die Oestrogenkonzentrationen in Gonaden und Nebennieren von Säuglingen und Kleinkindern, und es gibt noch keinen direkten Nachweis dafür, daß tatsächlich die Ovarien die Quelle für die deutliche Erhöhung der Oestradiolspiegel im Plasma der weiblichen Säuglinge und die Hoden die Quelle für den weniger ausgeprägten Oestradiolanstieg bei den männlichen Säuglingen sind.

Die direkte Bestimmung der Sekretionsleistung eines Organs ist möglich durch den Vergleich der Konzentrationen eines Hormons in den venösen Gefäßen eines Organs mit den arteriellen Werten oder den Werten im peripheren Blut. Der Beitrag des Organs an der Gesamtproduktion kann unter Berücksichtigung der Durchblutungsgröße errechnet werden. Die Gesamtproduktion aller Organe und die Konversion einzelner Steroide in andere wird durch Infusion radioaktiv markierter Hormone gemessen.

Aus solchen Messungen ergeben sich für die Oestrogene bei Frauen vor der Menopause jeweils am Ende der Follikelphase folgende Werte: Für das Oestradiol beträgt der Anteil der Sekretion durch das Ovar an der Gesamtproduktion ca. 95 %, für das Oestron ca. 40 % (Lipsett 1978). Die restlichen ca. 60 % des Oestrone entstehen durch periphere Konversion aus Androstendion, das wiederum bis zu ca. 50 % vom Ovar und zu ca. 50 % von der Nebennierenrinde (Baird et al. 1974) sezerniert wird. Geringe Mengen von Oestron werden von der Nebennierenrinde direkt sezerniert. Die Schätzungen der Sekretion des Oestrone aus der Nebennierenrinde durch Messung der arterio-venösen Differenz ergeben einen Anteil von 4 % (Saez et al. 1972) bis 20 % (Baird et al. 1969 b) an der gesamten Oestronproduktion.

Bei Frauen nach der Menopause sezernierten die Ovarien nur noch geringe Oestrogenmengen (Judd et al. 1974 b, Greenblatt et al. 1976). Oestron, das jetzt überwiegende Oestrogen, wird hauptsächlich aus von der Nebennierenrinde sezerniertem Androstendion metabolisiert (Grodin et al. 1973). Der Beitrag des Ovars an der Androstendion-Produktion ist nach der Menopause geringer als zuvor (Judd et al. 1974 b).

Bei Männern entsteht fast das gesamte Oestron (ca. 58 $\mu\text{g}/\text{Tag}$) durch Konversion von Oestradiol (32 %) und Androstendion (68 %). Oestradiol (ca. 44 $\mu\text{g}/\text{Tag}$) wird zu ca. 15 % direkt vom Hoden sezerniert, der Rest entsteht durch periphere Konversion von Oestron (48 %) und Testosteron (37 %) (MacDonald et al. 1979). Andere Autoren, die auch mit der Infusion radioaktiv markierter Steroide arbeiteten, schätzten den Anteil der direkten Sekretion höher (Longcope et al. 1969, Baird et al. 1969 a). Auch Messungen der Oestrogenkonzentrationen in den venösen Gefäßen von Testis und Nebenniere, die – bis auf Oestradiol im Nebennieren-Venen-Blut – immer höher als im peripheren Blut lagen, sind nicht eindeutig. Sie ergeben für Oestradiol einen Anteil von 5 % (Longcope et al. 1972) oder 25 % (Kelch et al. 1972) bis zu 60 % (Baird et al. 1973) durch Sekretion aus den Hoden, für Oestron einen Anteil von 2 % (Longcope et al. 1972) oder 10 % (Baird et al. 1973). Der Anteil der direkten Oestrogen-Sekretion aus den Nebennieren an der Gesamtproduktion ist genauso hoch wie bei Frauen.

Solche Messungen sind bei Kindern kaum vertretbar. Um hier einen Anhalt für die Sekretionsleistung zu bekommen, wurden in der vorliegenden Arbeit die Konzentrationen der Oestrogene in den für ihre Produktion in Frage kommenden Organen, den Gonaden und Nebennieren, bestimmt und die Gewebekonzentrationen mit den Plasmakonzentrationen verglichen.

Da aus Biopsien entsprechendes Material von Säuglingen nicht zur Verfügung steht, bot sich die Untersuchung von frischem Autopsiematerial an. Da längere Krankheit durch chronischen Stress zu gesteigerter Aktivität der Nebennierenrinde und durch verminderte Gonadotropinsekretion zu verminderter Gonadenaktivität führen könnte, wurden in

diese Studie nur Kinder einbezogen, die aus offensichtlicher Gesundheit an einer plötzlichen Todesursache gestorben waren.

Daß postmortal Veränderung des Steroidgehaltes im Gewebe nur langsam eintreten, scheint durch Untersuchungen von Ruokonen et al. (1972) bewiesen, die beim Vergleich von durch Kastration entnommenen Hoden mit Hoden Verstorbener keinen Unterschied im Steroidgehalt feststellten. Allerdings wurden nur Androgene und Gestagene gemessen, nicht aber Oestrogene, die im Blut und Gewebe um Zehnerpotenzen niedriger liegen. Kley und Rick (1984) zeigten, daß sich die Oestron- und Oestradiolkonzentrationen bei Lagerung von Plasma oder Vollblut über 4 Tage bei 22°C zwar signifikant aber nur gering erniedrigen. Im tiefgefrorenen Plasma verringert sich der Oestrogengehalt über Jahre nur wenig (Phillips et al. 1984).

4.2. Cortisol und Oestrogene im zirkulierenden Blut

Cortisol bestimmten wir im Herzblut der verstorbenen weiblichen Säuglinge, da uns dieser Stress-Parameter für die Beurteilung der Nebennierenaktivität wichtig erschien. Bei den Bestimmungen wurde auf eine aufwendige chromatographische Abtrennung des Cortisols von den übrigen Steroiden verzichtet. Die zum Vergleich herangezogenen Normalwerte zeigten nach der 2. Lebenswoche bis zum Alter von 3 Monaten einen deutlichen Anstieg des Cortisols auf die für Erwachsene gültigen Normwerte.

Bei den an plötzlicher Todesursache verstorbenen Mädchen fanden wir in der Hälfte der Fälle über der Altersnorm liegende Plasma-Cortisolkonzentrationen. Bei diesen Fällen handelt es sich vermutlich um solche Kinder, die präfinal noch mit Stress reagieren konnten. Eine ähnliche Beobachtung machten Bidlingmaier et al. (1983 und 1986) an plötzlich verstorbenen Jungen, deren Gonaden- und Nebennierenentwicklung sie untersuchten. Die Oestrogenkonzentrationen im Plasma fast aller verstorbenen weiblichen Säuglinge betrugen ein Vielfaches der Werte gesunder Säuglinge. Auch war der für weib-

liche Säuglinge typische Verlauf der Oestrogenkonzentrationen im ersten Lebensjahr mit Spitzenwerte im 4. Lebensmonat und einem Abfall der Werte auf die niedrigen präpubertären Konzentrationen bis zum Ende des 2. Lebensjahres (Bidlemaier und Knorr 1978) bei den verstorbenen Mädchen nicht zu erkennen.

Auch bei den vier untersuchten verstorbenen männlichen Säuglingen erreichten die Oestrogenkonzentrationen im Plasma ähnlich hohe Werte. Die Richtigkeit der Messungen wurde durch die Untersuchung von Plasmaproben gesunder Kinder überprüft. Ihre Plasma-Oestrogene lagen immer im erwarteten Normbereich. Ebenso spricht für die Richtigkeit, daß auch Channing et al. (1984) im Plasma von sieben verstorbenen Kindern Oestrogenkonzentrationen über 200 pg/ml gemessen haben. Die Ursache für diese hohen Konzentrationen ist noch unklar. Denkbar wäre postmortal eine intravasale Hydrolyse von Oestrogensulfaten. Bei erwachsenen Frauen macht das Oestrone-sulfat den größten - allerdings inaktiven - Teil der Oestrogene im Plasma aus, mit Konzentrationen bis zu 1000 pg/ml (Purdy et al. 1961, Gurpide et al. 1971). Da die Oestrogenkonzentrationen nicht mit den Konzentrationen des Cortisols im Plasma korrelieren, ist eine stressbedingte Erhöhung der Oestrogensekretion aus den Nebennieren unwahrscheinlich. Ebenso scheidet eine durch die Abnahme aus dem Herzen bedingte Verfälschung als Ursache für dieses Phänomen aus.

Wegen der noch ungeklärten Abweichung der Plasma-Oestrogenkonzentrationen verstorbener Säuglinge von den Normwerten werden im folgenden die gefundenen Gewebekonzentrationen von Oestron und Oestradiol in den Nebennieren und Gonaden der verstorbenen Kinder mit den mittleren Plasmaspiegeln verglichen, die normalerweise bei Kindern derselben Altersstufe gefunden werden.

4.3. Die Bedeutung von Gonaden und Nebennieren als Quellen der Oestrogene

Die Bestimmung der Gewebekonzentrationen von Oestradiol und Oestron in Gonaden und Nebennieren sollte Klarheit über die tatsächliche Herkunft dieser Oestrogene bei Säuglingen und Kleinkindern geben.

Die Tatsache, daß die Oestradiol- aber auch die Oestronkonzentrationen der Ovarien weit über denen des Plasmas liegen, und der ähnliche Anstieg und Abfall der Konzentrationen im Plasma und in den Ovarien stützen die Annahme, daß das Ovar die Quelle zumindest eines wesentlichen Anteils der im Blut der Säuglinge zirkulierenden Oestrogene und auf jeden Fall die Quelle der vorübergehenden Erhöhung der Plasma-Oestrogene im 1. Lebensjahr ist. Der sehr ähnliche Verlauf der FSH-Konzentrationen im Blut weiblicher Säuglinge und Kleinkinder (Winter et al. 1975) läßt vermuten, daß auch in dieser frühen Entwicklungsperiode das Ovar von den Gonadotropinen stimuliert wird und auf vermehrtes FSH mit Oestrogenproduktion reagiert. Dabei dominiert im Ovar wie im Blut das Oestradiol. Eine untergeordnete Rolle spielt das Oestron. Während die Oestradiolkonzentrationen im Ovar 400 mal höher waren als im Plasma gesunder Kinder, war das Oestron gegenüber dem Plasma nur 100 fach erhöht.

In den Ovarien etwa 3 Monate alter Säuglinge, die im Mittel die höchsten Oestrogenkonzentrationen enthalten, beträgt das Verhältnis von Oestradiol zu Oestron 20 : 1. Bis zum Ende des 1. Lebensjahres sinkt dieses Verhältnis auf ca. 5 : 1 ab. Interessanterweise war die Oestronkonzentration bei den jüngsten Säuglingen, die während der Geburt bzw. am ersten Lebenstag verstarben, deutlich höher als die der älteren Säuglinge. Sie betrug bis über die Hälfte der Oestradiolkonzentration. Dies könnte darauf hinweisen, daß die Enzymausstattung des Ovars während der fetalen und frühen postnatalen Entwicklung erst allmählich zu dem für Kinder und Erwachsene typischen Muster reift.

Bisher gibt es keine Mitteilungen über den Oestrogengehalt kindlicher Ovarien, mit denen wir unsere Ergebnisse vergleichen könnten. Channing et al. (1984) bestimmten Oestrogene in der Follikelflüssigkeit von Säuglings-Ovarien. Sie fanden einen ähnlichen Anstieg und Abfall der Oestrogene wie wir. Der Unterschied zwischen verschiedenen Altersgruppen war

aber wegen der geringen Anzahl der Proben statistisch nicht signifikant. Daß die Autoren einen ungefähr vierfach so hohen Oestrogengehalt pro Ovar fanden, erklärt sich wahrscheinlich damit, daß sie eine Bestimmungsmethode ohne chromatographische Vorreinigung der Oestrogene verwendeten.

Ob der Hoden Oestrogene sezerniert, wird schon seit etwa 1920 diskutiert. Das Ausmaß der testikulären Oestrogenproduktion ist auch heute noch nicht ganz klar. Ein Überblick über die frühe Literatur findet sich bei Goldzieher und Roberts (1952). Sie ermittelten eine Oestradiolkonzentration im menschlichen Hoden mit Bioassay nach Lösungsmittelverteilung und Chromatographie von 5,7 ng/g und erreichten damit annähernd dieselben Ergebnisse, wie sie bei neueren Messungen mit Radioimmunoassay gefunden werden. Bei sieben Männern mit Prostatakarzinom wurden von Leinonen (1980) eine Oestronkonzentration von 0,5 ng/g und eine Oestradiolkonzentration von 4,2 ng/g gemessen. Dagegen fanden Takahashi et al. (1982) in Hoden von Männern mit Oligospermie eine Oestradiolkonzentration von 18,2 ng/g.

Wir konnten in allen untersuchten Hoden sowohl Oestron als auch Oestradiol nachweisen. Dabei glich der Verlauf der Oestrogenkonzentration dem der Androgene, die in einer vorangehenden Untersuchung aus demselben Probenmaterial bestimmt worden waren (Bidlemaier et al. 1983). Ein Vergleich der Ergebnisse zeigte besonders enge Korrelationen zwischen Oestradiol und Testosteron ($p < 0,001$) und zwischen Oestron und Androstendion ($p < 0,001$), den jeweils unmittelbar aufeinanderfolgenden Syntheseprodukten. Wenn man die testikulären Oestrogenkonzentrationen von Kindern mit denen von Erwachsenen (Leinonen 1980) vergleicht, betragen die Oestradiolkonzentrationen im Alter von 1 bis 3 Monaten ca. die Hälfte der Erwachsenenwerte und reichen mit den Spitzenwerten in den Erwachsenenbereich hinein. Nach dem 6. Lebensmonat betragen die Oestradiolkonzentrationen nur noch ein Siebentel der Erwachsenenkonzentrationen. Die Oestronkonzentrationen liegen im Alter von 1 bis 3 Monaten leicht über und nach dem 6. Lebensmonat leicht unter den Erwachsenenwerten.

Der Hoden scheint also auch im Säuglingsalter eine direkte Quelle der Oestrogene im Blut zu sein, und die vorübergehende "Oestrogen-

welle" im Blut im ersten Lebensjahr ist nicht allein auf die periphere Konversion der zu dieser Zeit stark erhöhten Androgene zurückzuführen. Dabei ist schon beim Säugling das typische Hodenoestrogen das Oestradiol, dessen Konzentration im Mittel etwa zweimal so hoch war wie die des Oestrone. Insgesamt scheint zumindest der Beitrag des Hodens zu dem im Blut zirkulierenden Oestron gering zu sein: Die deutliche "Oestronwelle" im Hoden – die Konzentrationen sind in den ersten drei Lebensmonaten im Mittel doppelt so hoch wie nach dem 6. Monat – macht sich nämlich im Blut bemerkbar.

Im Blut sind die Oestronkonzentrationen junger Säuglinge zwar etwas höher als die älterer Säuglinge, doch ist dieser Unterschied nicht signifikant (Bidlemaier und Knorr 1978). Messungen von Oestrogenen im menschlichen Nebennierengewebe von Kindern und Erwachsenen sind bisher nicht durchgeführt worden. Beall (1939 und 1940) schätzt die Oestronkonzentration der Rinder-Nebenniere durch Bioassay und colorimetrische Messungen nach Lösungsmittelverteilung auf 8 ng/g.

Wir fanden hohe Oestrogenkonzentrationen in den kindlichen Nebennieren. Sowohl Oestron als auch Oestradiol waren in der Nebenniere 300 mal so hoch wie im Plasma gesunder Kinder. Der absolute Gehalt der Oestrogene in der Nebenniere übertraf immer den der Hoden. Im Ovar war lediglich der Oestradiolgehalt im 3. und 4. Lebensmonat höher als in der Nebenniere.

Die Tatsache, daß bei unseren Messungen die Konzentrationen der Oestrogene im kindlichen Nebennierengewebe im untersuchten Zeitraum weder alters- noch geschlechtsabhängig waren, zeigt, daß die Nebennierenrinde nicht zu der vorübergehenden Erhöhung der Oestrogene im Blut beiträgt. Es ist daher anzunehmen, daß die gegenüber männlichen Säuglingen höheren Plasma-Oestradiolwerte der weiblichen Säuglinge aus den Ovarien stammen.

Wie hoch die Oestrogensekretion der Nebennieren im Verhältnis zu den Gonaden ist, kann aus den Konzentrationen in den Geweben natürlich nicht mit Sicherheit geschlossen werden. Es spricht aber einiges dafür, daß der Steroidgehalt der Organe ungefähr der Sekretion proportional ist. So kann aus den Daten, die Leinonen (1980) für die

Oestrogene im Gewebe und venösen Blut des Hodens angibt, sowie aus den entsprechenden Daten von MacDonald et al. (1979) und Pasqualini et al. (1981) für das Testosteron des Hodens ein ungefähr proportionales Verhältnis zwischen Steroidgehalt und Sekretion errechnet werden. Die Sekretion entspricht dabei einem Umsatz des gesamten Steroidgehaltes des Organs alle 5 bis 10 Minuten. Von Neville und O'Hare (1982) wird dies für die C_{21} -Steroide der Nebennierenrinde bestätigt. Aus Untersuchungen bei Erwachsenen schätzen Neville und O'Hare (1982), daß die Sekretion des Oestradiols aus der Nebenniere höchstens ein Zehntel der Oestronsekretion beträgt. Keymolen et al. (1976) stellten in Zellsuspensionen von menschlicher Nebennierenrinde ein Verhältnis von Oestron zu Oestradiol wie 6 zu 1 fest. Bei unseren Untersuchungen fanden wir dagegen in den Nebennieren der Säuglinge nahezu gleich hohe Konzentrationen von Oestron und Oestradiol. Dies würde entweder bedeuten, daß die kindliche Nebennierenrinde - wenn sie Oestron und Oestradiol im selben Verhältnis wie die erwachsene Nebenniere sezerniert - eine ca. 10 fach höhere Speicherkapazität für Oestradiol als für Oestron besitzt, oder bedeuten, daß sie mehr Oestradiol als die erwachsene sezerniert. Wir möchten jedoch aus unseren Messungen aufgrund der erwähnten Schwierigkeiten bei der Extraktion der Oestrogene aus dem Nebennierengewebe keine zu weit gehenden Schlußfolgerungen ziehen.

4.4. Ursachen für die Streuung der gemessenen Gewebekonzentrationen

Ähnlich wie im Blut zeigen auch die Oestrogenkonzentrationen im Gewebe - vor allem während der Zeit der erhöhten Konzentrationen im ersten Lebensjahr - eine weite Streuung. Dafür sind mehrere Ursachen denkbar.

Die Oestronkonzentration im Blut, deren Quelle vor allem die Nebennierenrinde ist, zeigt bei Männern im Gegensatz zur Oestradiolkonzentration einen für die Nebennierenrinden-Aktivität typischen zirkadianen Rhythmus, das heißt die Werte liegen morgens höher als am Abend (Baird und Guevara 1969). Auch in der Kindheit ist ungefähr vom 4. Lebensmonat an der zirkadiane Rhythmus der Nebennierenrinden-

Sekretion zu beobachten, der sich wegen des schnellen Umsatzes der synthetisierten Steroide sicherlich in der Konzentration im Nebennierengewebe widerspiegelt. Bei jüngeren Säuglingen sind unregelmäßige Schwankungen der Cortisol-Plasmaspiegel während eines Tages zu beobachten (Vermees et al. 1980).

Die Sekretion der Gonadotropine zeigt ein pulsatile Muster, das zum Teil eine entsprechende Sekretion von Steroiden aus den Gonaden hervorruft. Eine pulsatile Sekretion von LH und mit geringeren Amplituden auch von FSH ist bei Erwachsenen bekannt (Nankin und Troen 1971, Naftolin et al. 1972). Sie induziert bei Frauen eine pulsatile Sekretion von Oestradiol (Bäckström et al. 1982), während bei Männern eine pulsatile Sekretion von Testosteron nicht bekannt ist. Auch bei Kindern scheinen die Gonadotropine pulsatil sezerniert zu werden. Nachdem Johanson und Vann (1974) zunächst keine pulsatile Sekretion bei Kindern feststellen konnten, wiesen Penny et al. (1977) mit einer empfindlicheren Methode nach, daß auch vor der Pubertät die Gonadotropine pulsatil freigesetzt werden mit fast ebenso häufigen Episoden wie bei Erwachsenen, allerdings mit geringerer Amplitude. Bei Säuglingen und Kleinkindern wurde der Sekretionsrhythmus der Gonadotropine bisher nicht untersucht. Es ist denkbar, daß die in dieser Zeit gesteigerte Aktivität des Hyperphysenvorderlappens zu ähnlich hohen Amplituden führt wie in Pubertät- u. Erwachsenenalter.

Eine eventuelle zirkadiane Rhythmik der Gonadotropine ist ebenfalls nur wenig untersucht. Mit Sicherheit können während der Pubertät auffällig hohe nächtliche LH-Spitzen beobachtet werden (Boyar et al. 1972). Kulin et al. (1976) und Judd et al. (1977) stellten auch bei präpubertären Kindern nächtliche LH- und FSH-Spitzen fest. Dies konnte von Beck und Wutke (1980) nicht bestätigt werden.

Auch die gonadalen Steroide zeigen zum Teil einen zirkadianen Rhythmus. Eine Rhythmik der Plasma-Testosteronkonzentrationen mit den niedrigsten Werten am Abend und den höchsten am Morgen konnte bei Männern (Southren et al. 1965, Resko und Eik-Nes 1966, Evans et al. 1971), später auch bei pubertären (Judd et al. 1974a), aber nicht bei prä-

pubertären Jungen (Judd et al. 1977) festgestellt werden. Untersuchungen über eine eventuelle zirkadiane Rhythmik der Oestrogenkonzentrationen bei präpubertären Kindern existieren nicht. Signifikante physiologische Schwankungen der Plasma-Oestrogene sind in dieser Entwicklungsperiode wegen der äußerst niedrigen Konzentrationen aus methodischen Gründen nicht erfassbar. Bei Mädchen in der Pubertät zeigen die Oestradiolkonzentrationen im Blut eine zirkadiane Rhythmik mit den höchsten Werten am Nachmittag und den niedrigsten in der Nacht (Boyar et al. 1976).

Bei Mädchen ist noch eine weitere mögliche Ursache für die Streuung der gemessenen Gewebekonzentrationen zu diskutieren. Schon vor der Pubertät sind zyklusähnliche unregelmäßige Fluktuationen von FSH und LH im Blut (Winter und Faiman 1973) als auch bei einigen Säuglingen von Oestrogen im Urin (Kuhnle et al. 1982) zu beobachten.

Die Streuung der Oestrogenkonzentrationen im Blut wie im Gewebe ist während der vorübergehenden Gonadenaktivierung im ersten Lebenshalbjahr besonders groß. Wenn hier als Ursache die Faktoren, die eine Schwankung innerhalb eines Tages bewirken, im Vordergrund stehen, sollten die Konzentrationen im Sammelurin eine geringere Streuung aufweisen als im Blut. Da aber auch die Oestrogenmengen im Sammelurin während der frühen Gonadenaktivierung stark variieren (Kuhnle et al. 1982), überwiegen wahrscheinlich die Schwankungen von Tag zu Tag. Möglicherweise existieren große individuelle Unterschiede in der Aktivität der Hypophysen-Gonadenachse im Säuglingsalter.

4.5. Zusammenhang von funktionellen und morphologischen Veränderungen mit der Oestrogenproduktion von Gonaden und Nebennieren

Die überraschend starke vorübergehende Aktivierung der Gonaden in der frühen Säuglingsperiode wird heute im allgemeinen auf den plötzlichen Anstieg der Gonadotropine, bei den Jungen insbesondere des LH's, bei den Mädchen des FSH's, zurückgeführt (Buckler und Clayton 1970, Faiman und Winter 1971, Forest et al. 1974, Winter et al. 1975). Dabei scheint es sich um einen Rebound-Effekt zu handeln. Durch die Ausscheidung der plazentaren Steroide nach der Geburt kommt es zu

einer Aktivierung der kindlichen Hypophyse, die wachsende Mengen an FSH und LH in das zirkulierende Blut abgibt. Die infantilen Ovarien antworten auf den Gonadotropin-Stimulus offensichtlich prompt und geschlechtsspezifisch mit einer Steigerung der Oestrogenproduktion, die infantilen Hoden dagegen mit einer Steigerung der Testosteron- und im geringeren Maße auch der Oestrogenproduktion.

Bei Jungen ist zur selben Zeit im Hoden morphologisch eine Aktivierung des Leydigzell-Systems zu erkennen. Die Zahl voll entwickelter Leydigzellen hat ihr Maximum mit $2\frac{1}{2}$ Monaten erreicht. Nach dem 6. Monat sind nur noch vereinzelt floride Zellen mit den Zeichen endokriner Aktivität zu erkennen (Brunecki 1984). Die Steroidproduktion des Hodens folgt also exakt dem Verlauf der morphologischen Entwicklung der Leydigzellen.

Das Ovar ist während der letzten Monate des intrauterinen Lebens und auch während der ganzen Kindheit ein aktives Organ (Runge 1906, Hartmann 1926, Spivak 1934, Merrill 1963, Valdes-Dapena 1967, Peters et al. 1976). Ab dem 3. Schwangerschaftsmonat beenden die Oogonien ihre mitotische Teilung und haben bis zum Ende der Fetalzeit die meiotische Teilung angetreten. Diese vollzieht sich bis zum Diplotänstadium der Prophase. Mit einer Schicht spindelförmiger Zellen umgeben, bilden diese Oozyten die Primordialfollikel, die den Pool ruhender nicht proliferierender Follikel ausmachen. Bei Geburt sind dies ca. 143 000 dicht gedrängt liegende Follikel (Simkins 1932). Während der letzten Monate der Fetalzeit und während der ganzen Kindheit verlassen Follikel den Pool und durchlaufen die charakteristischen Wachstumsstadien, die vom primordialen über den präantralen zum antralen und präovulatorischen Follikel führen, es sei denn sie sterben vorher ab. Bis zum 14. Lebensjahr hat sich so der Pool der Primordialfollikel um 93 % auf ca. 10 500 vermindert (Simkins 1932). Das Ovar des Säuglings zeigt dabei oft ein "polyzystisches" Aussehen, bei dem über die Hälfte des Ovars von flüssigkeitsgefüllten intakten oder atretischen Follikeln eingenommen wird (Merrill 1963, Polhemus 1953).

Eine Luteinisierung der Thecazellen, ein histologisches Zeichen für Steroidproduktion, wurde vermehrt bei Neugeborenen beobachtet. In etwas geringerem Ausmaß ist sie während der ganzen weiteren präpubertären Kindheit zu sehen (Kraus und Neudecker 1962). Hiluszellen, die ebenfalls Steroide sezernieren können, sind nur während des 1. Lebensjahres und dann erst wieder ab der Pubertät zu beobachten (Valdes-Dapena 1967). Die bei Geburt bei 60 % der Ovarien zu beobachtenden antralen Follikel sind bei 8 bis 28 Tagen alten Säuglingen nur noch bei 30 % der Ovarien zu sehen und nehmen dann wieder zu, so daß am Ende des 1. Lebensjahres alle Ovarien antrale Follikel enthalten (Lintern-Moore 1973). Untersuchungen von Polhemus (1953) lassen eine besonders starke Aktivierung der Ovarien im 4. Monat erkennen. Er beobachtete im 4. Monat bei 67 % der untersuchten Ovarien ein "polyzystisches" Aussehen, bei dem über die Hälfte des Ovars von flüssigkeitsgefüllten intakten oder atretischen Follikeln eingenommen wird. Dies ist ein weitaus größerer Anteil als in allen anderen Altersstufen bis zum 10. Lebensjahr und entspricht dem Eindruck, den wir makroskopisch bei der Präparation der von uns biochemisch untersuchten Ovarien gewannen. Es ist also auch beim Ovar des Säuglings eine Parallelität von morphologischer Entwicklung und endokriner Aktivität zu erkennen.

Die Konzentrationen von Ostron und Oestradiol im Nebennierengewebe waren altersunabhängig gleich hoch. Sie verhalten sich damit nicht so wie die C_{19} -Steroide Androstendion und Testosteron - ihre unmittelbaren Precursoren in der Steroidbiosynthese -, die im Laufe des ersten Lebensjahres von sehr hohen Werten bei Geburt auf die niedrigeren präpubertären Werte abnehmen (Bidlemaier et al. 1986). Diese Abnahme geht der Involution der fetalen Nebennierenrindenzone parallel (Dhom 1965, Beck 1971).

4.6. Oestrogenproduktion in den fetalen Ovarien

4.6.1. Frühere Untersuchungen

Über den Zeitpunkt des Beginns der Oestrogenproduktion im menschlichen fetalen Ovar liegen bisher keine einheitlichen Ergebnisse vor. Bestimmungen der Oestrogene im Blut der Feten geben keinen Aufschluß über die Fähigkeit der fetalen Ovarien zur Oestrogenproduktion während der Schwangerschaft. Die Werte im Blut zeigen keine Geschlechtsunterschiede, da der eventuelle Beitrag der fetalen Ovarien zu den im Plasma zirkulierenden Oestrogenen von den hohen Oestrogenmengen, die aus der Feto-Placentaren-Einheit (Diczfalusy 1969) stammen, verdeckt wird. Zwar stellten Reyes et al. (1973) einen geringen Gehalt (500 pg/g) von Oestradiol im menschlichen fetalen Ovar fest, er war aber im Hoden und in den weiblichen und männlichen fetalen Nebennieren ähnlich hoch. Payne und Jaffe (1974) fanden im Gewebehomogenat von fetalen Ovarien (12. bis 18. Schwangerschaftswoche), das mit ^3H -Pregnenolonsulfat inkubiert wurde, zwar eine Anreicherung von Precursoren, aber kein Testosteron oder Oestrogen. George et al. (1979) fanden allerdings nach Inkubation von intaktem Kaninchenhoden mit ^3H -Pregnenolon Oestrogene im Gewebeextrakt. Eine interessante Studie (Pinkerton 1959) zeigt mit histochemischen Methoden, daß Follikel in den letzten drei Monaten der Schwangerschaft genauso wie bei Erwachsenen Glykogen in den Granulosazellen und Aktivität der alkalischen Phosphatase in den Thekazellen besitzen. Kindliche Follikel vor der Pubertät zeigen diese Charakteristik nicht. Goldman et al. (1965) zeigten mit histochemischen Methoden in fetalen Follikeln ab dem vierten Schwangerschaftsmonat, im fetalen Testis schon während des zweiten Schwangerschaftsmonats das exzessive Vorhandensein der 3β -Hydroxydehydrogenase die u.a. den Schritt vom Dehydroepiandrosteron zum Androstendion katalysiert. Jungmann und Schweppe (1968) wiesen die Fähigkeit von 22-Wochen alten fetalen Ovarien, ^{14}C -Acetat zu Progesteron zu konvertieren, nach. Bloch (1964) konnte mit der Radioisotopenverdünnungsmethode im Gewebehomogenat von menschlichen fetalen Ovarien (9.-19.

Schwangerschaftswoche) nach Inkubation mit ^{14}C -Progesteron keine C_{18} und C_{19} -Steroide und nur bei den ältesten Ovarien geringe 17α -Hydroxyprogesteronsynthese nachweisen, während er eine starke 17α -Hydroxyprogesteron- und geringe Testosteronsynthese im fetalen Hoden zeigte. Schindler und Friedrich (1975) fanden mit der Doppelisotopenmethode im Gewebehomogenat von menschlichen fetalen Ovarien der 14. bis 38. Schwangerschaftswoche nach Inkubation mit ^{14}C -Pregnenolon vor allem von der 25. bis 34. Schwangerschaftswoche Progesteron, wenig 17α -Hydroxypregnenolon und Dehydroepiandrosteron, aber kein 17α -Hydroxyprogesteron, Androstendion, Testosteron, Oestradiol oder Oestron.

Alle bisher genannten Arbeiten weisen zwar die Existenz einzelner Schritte in der Oestrogenbiosynthese nach, aber der Nachweis von Oestrogenen im Ovar wurde nicht unternommen oder mißlang. Auch ist bisher der Zeitpunkt des Beginns der Oestrogenbiosynthese nicht bestimmt.

Wenn man nun aber die von Erwachsenen bekannte Parallelität von Follikelentwicklung und Oestrogenbiosynthese auf die fetalen Ovarien überträgt, so sollten in ihnen parallel zur histologischen Differenzierung zumindest ab dem vierten Schwangerschaftsmonat Oestrogene zu finden sein. Die histologische Differenzierung der Ovarien beginnt bei allen Säugetieren später als die des Hodens. Beim menschlichen Fetus beginnen die Keimzellen im Ovar während des dritten Schwangerschaftsmonats mit der meiotischen Teilung (Baker 1963). Die ersten kleinen Follikel erscheinen im vierten Monat (Sauramo 1954, van Wageningen und Simpson 1965) und beginnen sofort mit ihrem Wachstum. Bis zum sechsten Monat entwickeln sich viele präantrale Follikel, während der letzten zwei Schwangerschaftsmonate zeigen sich antrale Follikel und bei einem Neugeborenen Mengen großer antraler oder cystenähnlicher Follikel (Potter 1963). Beim Fetus zeigen die Follikel oft eine Morphologie (Peters et al. 1978), die etwas von der des Erwachsenen abweicht.

Während schlüssige Beweise für die Oestrogenbiosynthese im menschlichen fetalen Ovar fehlen, liegen sie für andere Species inzwischen vor. Wilson und Mitarbeiter haben in ausführlichen Versuchen eine Oestradiolproduktion im fetalen Kaninchenovar nachgewiesen. Sie haben den Steroidgehalt in den Gonaden gemessen (George et al. 1978). Im selben Zeitpunkt, in dem im Kaninchenhoden die Testosteronkonzentration steil ansteigt, zeigt auch das Ovar eine deutliche Erhöhung des Oestradiols. Dieser Anstieg ereignet sich vor der Differenzierung der Primordialfollikel. Auch bei anderen Species scheint die Oestrogenbiosynthese zur selben Zeit wie die Testosteronbiosynthese in den fetalen Gonaden aktiviert zu werden (Sholl und Goy 1978) oder zumindest in der späten Schwangerschaft zu beginnen (Resko 1977, Roberts und Warren 1964).

Für das menschliche fetale Ovar wurde lediglich die Fähigkeit der Synthese von Oestradiol und Oestron aus Androstendion bzw. Testosteron im Inkubationsversuch gezeigt (George und Wilson 1978). Zeitpunkt für den Beginn der Aromataseaktivität ist wie für den Beginn der Testosteronsynthese die achte Schwangerschaftswoche. In derselben Studie wurden signifikante, aber geringere Raten der Aromataseaktivität in der Leber (nur Oestron), im Hypothalamus und in der Hypophyse gezeigt. Andere Gewebe, darunter die fetale Nebenniere, zeigten keine, der fetale Hoden nur geringe Aromataseaktivität.

Obwohl nur die Aromataseaktivität gezeigt wurde und in früheren Inkubationsversuchen mit ^3H -Pregnonolon bzw. ^3H -Progesteron kein Testosteron im Ovar von der 13. bis 21. Schwangerschaftswoche gefunden wurde (Siiteri und Wilson 1974), halten die Autoren damit die Fähigkeit des fetalen menschlichen Ovars zur Oestrogenbiosynthese ab der achten Schwangerschaftswoche für erwiesen (George und Wilson 1980).

4.6.2. Eigene Ergebnisse

Wir konnten sowohl hohe Oestron- als auch Oestradiolkonzentrationen in fetalen Hoden und Ovarien aus der zweiten Hälfte der Schwanger-

schaft nachweisen. Beide Oestrogene waren annähernd gleich hoch und zeigten damit ein anderes Muster als die Oestrogenkonzentrationen in den Gonaden der Säuglinge, bei denen die Oestradiol- immer die Oestronkonzentration übertraf. Interessant ist in diesem Zusammenhang unsere bereits erwähnte Beobachtung, daß im Ovar des Neugeborenen (1. Tag) Oestron etwa halb so hoch ist wie Oestradiol, während es sonst nur 1/10 der Oestradiolkonzentrationen beträgt. Wir können unsere Ergebnisse nur mit denen von Reyes et al. (1973) vergleichen. Sie bestimmten Oestradiol radioimmunologisch nach Extraktion mit Äther und Natriumhydroxid. Die Konzentrationen in den meisten Gonaden aus der ersten Schwangerschaftshälfte lagen unter der Nachweisgrenze ihrer Methode. In einzelnen Ovarien und Hoden wurden aber Konzentrationen bis 9000 pg/g gemessen. Im Mittel lagen also ihre Ergebnisse weit unter den von uns gemessenen Konzentrationen von 2500 bis 60 000 pg/g. Genauso wie sie konnten wir aber keine Konzentrationsunterschiede zwischen Hoden und Ovarien feststellen. Unsere Ergebnisse stützen die Annahme der Synthese von Oestron und Oestradiol sowohl in den Ovarien als auch in den Hoden in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft. Allerdings verbieten sich wegen der geringen Anzahl der Proben und der unterschiedlichen Gründe für die Interruptio oder den intrauterinen Fruchttod weitergehendere Aussagen. Die Ergebnisse lassen aber weitere Untersuchungen interessant erscheinen.

4.6.3. Regulation der Oestrogenbiosynthese in den fetalen Ovarien

Die Frage, ob der Beginn der Steroidbiosynthese in den Gonaden durch trophe Hormone stimuliert wird oder in ihnen selbst ausgelöst wird, ist nicht gelöst. Ungeklärt ist auch, ob die Vorgänge im Ovar und im Hoden ähnlich ablaufen. Unumstritten ist, daß in der späten Schwangerschaft wie in der postnatalen Zeit die Gonadotropine der Hypophyse oder/und der Plazenta die Rate der Steroidbiosynthese in den Gonaden, hauptsächlich durch die Kontrolle der side-chain-cleavage von Cholesterol zu Pregnenolon, regulieren (Wilson et al. 1981).

Faiman, Winter und Mitarbeiter (Reyes et al. 1976) halten aufgrund des gleichzeitigen Anstiegs von Testosteron im Hoden und Serum und von HCG im Serum, dem die histologische Differenzierung des Hodens, die Differenzierung der inneren und z.T. der äußeren Genitalien und die Entwicklung der HCG-Rezeptoren der Leydigzellen parallel geht, eine Stimulierung der Testosteronbiosynthese durch HCG für wahrscheinlich. Der spätere Anstieg von fetalem LH und FSH von der 12. bis 30. Schwangerschaftswoche könnte für die Weiterentwicklung des Hodens und des äußeren Genitales sowie für die Aufrechterhaltung einer Basalsekretion von Testosteron, die noch über den präpubertalen Werten liegt, verantwortlich sein. Dies scheint durch Befunde bei anenzephalen männlichen Feten wahrscheinlich, die ein differenziertes männliches Genital, aber ab der 24. Schwangerschaftswoche ein vermindertes Hodengewicht, eine verminderte Zahl von Leydigzellen und Tubuli seminiferi und oft einen Maldescensus des Hodens zeigen (Reyes et al. 1976).

Weniger eindeutig sind die Beziehungen zwischen Gonadotropinen und den fetalen Ovarien. Zum Zeitpunkt des HCG-Anstieges findet sich noch keine histologische Differenzierung des Ovars. Der bei den weiblichen Feten ähnlich wie bei den männlichen erfolgende Anstieg der hypophysären Gonadotropine – wobei insbesondere FSH noch höhere Werte erreicht – geht mit der Differenzierung der Primordialzellen zu Oozyten und Granulosazellen und der Entwicklung von Follikeln einher (Reyes et al. 1976). Ob aber der Anstieg der Gonadotropine wirklich für die Entwicklung der Ovarien und für eine eventuelle Oestrogenbiosynthese verantwortlich ist, ist zweifelhaft, da bisher keine Gonadotropinrezeptoren im fetalen Ovar nachgewiesen wurden und da der anenzepale weibliche Fetus bis zur 34. Schwangerschaftswoche weitgehend normale Ovarien besitzt (Zondek und Zondek 1983).

Die Arbeitsgruppe um Wilson hält zwar aufgrund ihrer Untersuchungen am Kaninchen eine gonadotrope Stimulation des Beginns der Steroidbiosynthese in den Gonaden für möglich, da beim fetalen Kaninchen der Hoden bei Beginn der Testosteronproduktion LH-Rezeptoren in der

Membran der Leydigzellen enthält und diese Rezeptoren funktionell mit der side-chain-cleavage von Cholesterol zu Pregnenolon gekoppelt sind (George et al. 1979). Beim Ovar des fetalen Kaninchens wurden jedoch keine LH-Rezeptoren zum Zeitpunkt des Beginns der Oestrogensynthese nachgewiesen. Wilson und George fanden Hinweise, die es auch möglich erscheinen lassen, daß die Differenzierung der Gonaden als endokrine Organe von Faktoren innerhalb der Gonaden kontrolliert wird (Wilson et al. 1981). Erstens findet die endokrine Differenzierung auch in Organkulturen (Kaninchen) statt, die frei von Gonadotropinen sind (Picon 1967, George und Wilson 1980). Zweitens sind bei Beginn der Testosteronbiosynthese im Kaninchenhoden Gonadotropine nicht nötig, da das die Syntheserate limitierende Enzym zunächst die 3β -Hydroxydehydrogenase und nicht die side-chain-cleavage ist, die durch Gonadotropine reguliert wird (George et al. 1979). Beim menschlichen fetalen Ovar entstehen aber die Enzyme, die für die Synthese von Pregnenolon zu Testosteron verantwortlich sind, wahrscheinlich gleichzeitig (Siiteri und Wilson 1974). Drittens läßt sich die Stimulation des Beginns der Testosteronbiosynthese im Hoden durch fetales LH durch den Befund in Frage stellen, daß bei hereditärem hypogonotropem Hypogonadismus oft ein Mikrophallus und Cryptorchismus, aber eine normale männliche Differenzierung gefunden wird (Wilson et al. 1981).

4.6.4. Bedeutung der Oestrogene in der embryonalen und fetalen Entwicklung

Jost (1953) zeigte durch seine klassischen Versuche, daß die Sekretion des Hodens für die männliche phänotypische Entwicklung unbedingt erforderlich ist. Ohne Gonaden entwickelt sich ein weiblicher Phänotyp. In der späten fetalen Phase sind die Oestrogene wahrscheinlich für die volle Entwicklung der weiblichen Genitalien, insbesondere die Entwicklung der Ovarien nötig (Wilson et al. 1981). Ob sie auch für die histologische Differenzierung des Ovars nötig sind, ist schon wegen des fehlenden Nachweises von Oestrogenen beim Menschen in dieser Zeit ungeklärt. Auch lassen sich indirekt aus Biosynthesedefekten

keine Schlüsse ziehen, da im Gegensatz zur Testosteronbiosynthese bei der Oestrogenbiosynthese bis heute keine Defekte bekannt sind, die zum völligen Fehlen der Oestrogene oder ihrer Wirkung führen.

5. Zusammenfassung

Erst seit kurzem ist eine vorübergehende Erhöhung der Oestrogene Oestron und Oestradiol im Plasma von weiblichen Säuglingen bekannt. Bei einzelnen Säuglingen werden im dritten und vierten Lebensmonat Spitzenwerte erreicht, wie sie sonst nur bei weit fortgeschrittener Pubertät zu beobachten sind. Auch bei männlichen Säuglingen finden sich höhere Oestradiolwerte im Plasma als in der späteren Kindheit. Sie sind jedoch niedriger als bei weiblichen Säuglingen und nur in den ersten 6 Lebensmonaten zu finden, in denen auch die Testosteronkonzentrationen erhöht sind.

In der vorliegenden Arbeit wurden zur Klärung des Ursprungs der Oestrogene die Konzentrationen von Oestradiol und Oestron in 50 Ovarpaaren, 64 Hoden und 34 Nebennieren von an plötzlicher Todesursache verstorbenen Säuglingen bestimmt.

Es wurde dabei eine bewährte spezifische Methode zur radioimmunologischen Bestimmung von Oestron und Oestradiol im Plasma benutzt, nachdem sie auf ihre Eignung zur Bestimmung von Hormonkonzentrationen im Gewebe überprüft worden war. Das benutzte Antiserum band fast ebenso stark an Oestron wie an Oestradiol. Die beiden Oestrogene wurden daher vor der radioimmunologischen Bestimmung durch Chromatographie getrennt und dadurch außerdem von unspezifischen Verunreinigungen befreit.

Die zuvor im Herzblut derselben Säuglinge bestimmten Oestron- und Oestradiolkonzentrationen waren durchschnittlich 14 mal bzw. 11 mal so hoch wie die des altersentsprechenden Normbereichs. Ob hier postmortal eine intravasale Konversion stattfindet, muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Bei etwa der Hälfte der Kinder fand sich - vermutlich als Ausdruck eines präfinalen Stress' - auch ein erhöhtes Plasma-Cortisol, das jedoch nicht mit den Oestrogenkonzentrationen korrelierte.

Die Ovargewichte zeigten eine deutliche Altersabhängigkeit. Sie waren am niedrigsten in den ersten vier Lebenswochen, erreichten die höchsten

Werte im 3. und 4. Lebensmonat und nahmen danach wieder ab. Parallel zur Zu- und Abnahme der Gewichte verliefen die Oestradiol- und Oestronkonzentrationen in den Ovarien. Sie zeigten damit einen ähnlichen Verlauf wie die Konzentrationen im Plasma gesunder Kinder. Maximale Konzentrationen wurden im 3. und 4. Lebensmonat erreicht. Danach fielen die Oestrogenkonzentrationen in den Ovarien wieder ab und blieben bis zum Ende der Beobachtungsperiode konstant niedrig. Dabei waren die Oestradiolkonzentrationen durchschnittlich 10 mal so hoch wie die Oestronkonzentrationen. Im Mittel enthielt 1 Gramm Ovargewebe 400 mal so viel Oestradiol und 100 mal so viel Oestron wie 1 ml Plasma gesunder Kinder. Weder in den Ovarien von Erwachsenen oder Kindern wurden bisher Oestrogenkonzentrationen gemessen, mit denen wir unsere Ergebnisse vergleichen könnten. Messungen in der Follikelflüssigkeit von Säuglingen (Channing 1984) ergaben 4 fach so hohe Werte.

Die Hodengewichte zeigten einen kräftigen Anstieg während der ersten fünf Lebensmonate. Während dieser Zeit verdoppelten sie sich nahezu, danach blieben sie für die Dauer der bis zum Ende des zweiten Lebensjahres reichenden Beobachtungsperiode konstant. Der Verlauf der Oestradiol- und Oestronkonzentrationen im Hodengewebe glich dem der Androgene im Plasma gesunder Kinder. Maximale Konzentrationen wurden im Alter von 1 bis 3 Monaten erreicht. Danach fielen die Werte wieder ab und blieben nach dem 6. Lebensmonat bis zum Ende der Beobachtungsperiode konstant niedrig. Dabei waren die Konzentrationen des Oestradiols durchschnittlich 2 mal so hoch wie die des Oestrons. Im Mittel enthielt 1 Gramm Hodengewebe 100 mal mehr Oestradiol bzw. 50 mal mehr Oestron wie 1 ml Plasma gesunder Kinder. Werte der Oestrogenkonzentration im Hoden von Säuglingen und Kindern liegen bisher nicht vor. Die von uns gemessenen Oestradiolkonzentrationen in Hoden von Säuglingen betrugen nach dem 6. Lebensmonat c. $\frac{1}{7}$ der Konzentrationen in Hoden von Erwachsenen (Leinonen 1980) und reichen im 2. und 3. Lebensmonat mit Spitzenwerten in den Erwachsenenbereich hinein. Die Oestronkonzentrationen im Alter von 1 bis 3 Monaten liegen leicht über und nach dem 6. Lebensmonat leicht unter den Erwachsenenwerten.

Die Oestrogenkonzentrationen im Nebennierengewebe sowohl der weiblichen als auch der männlichen Säuglinge waren alters- und geschlechtsunabhängig hoch. Sowohl die Oestron als auch die Oestradiolkonzentrationen betrugen das 300 fache der Plasmakonzentrationen gesunder Kinder.

Die Altersunabhängigkeit der Oestrogenkonzentrationen im Nebennierengewebe zusammen mit dem Verlauf der Konzentrationen im Ovar- bzw. Hodengewebe im ersten Lebensjahr stützen die Vermutung, daß das Ovar bzw. der Hoden die Quelle der sowohl bei Mädchen als auch - weniger ausgeprägt - bei Jungen zu beobachtenden "Oestrogenwelle" im ersten Lebensjahr ist.

Für die Beurteilung der absoluten Oestrogensekretion der Gonaden im Verhältnis zur Nebenniere ist wahrscheinlich der absolute Gehalt, der sich aus Konzentration und Organgewicht berechnet, wichtiger als die Konzentration im Gewebe. Bis auf den Oestradiolgehalt des Ovars im 3. und 4. Lebensmonat werden sowohl der Oestradiol- als auch der Oestrongehalt der Gonaden immer vom Gehalt in den Nebennieren übertroffen. Insbesondere der Beitrag des Hodens zu den im Blut zirkulierenden Oestrogenen scheint gering zu sein, ebenso der Beitrag des Ovars zu dem im Blut zirkulierenden Oestron.

Es wurden auch einige fetale Gonaden untersucht. Im Gegensatz zu Reyes et al. (1973), die Gonaden aus der ersten Hälfte der Schwangerschaft untersuchten und nur bei einigen Gonaden Oestradiolkonzentrationen über der Nachweisgrenze fanden, beobachteten wir sowohl in fetalen Ovarien als auch in fetalen Hoden aus der zweiten Hälfte der Schwangerschaft hohe Oestron- und Oestradiolkonzentrationen. Die einzelnen Werte waren meist höher als die entsprechenden maximalen Konzentrationen im ersten Lebensjahr. Insbesondere waren die Konzentrationen des Oestrons fast ebenso hoch wie die des Oestradiols, wie es auch in den Ovarien weiblicher Säuglinge am 1. Lebenstag zu beobachten war.

Abraham GE: Solid-phase radioimmunoassay of estradiol-17 β .
J. Clin. Endocrinol. Metab. 29, 866-870 (1969).

Abraham GE: Radioimmunoassay of steroids in biological material.
Acta Endocrinol. 75, Suppl., 183 (1974).

Bäckström CT, McNeilly AS, Leask RM, Baird DT: Pulsatile secretion of LH, FSH, prolactin, oestradiol and progesterone during the human menstrual cycle. Clinical Endocrinology 17, 29-42 (1982).

Baird DT and Guevara A: Concentration of unconjugated estrone and estradiol in peripheral plasma in nonpregnant women throughout the menstrual cycle, castrated and postmenopausal women and in men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 29, 149-156 (1969).

Baird DT, Horton R, Longcope C, Tait JF: Steroid dynamics under steady-state conditions. Recent Prog. Horm. Res. 25, 611-656 (1969a).

Baird DT, Uno A, Melby JD: Adrenal secretion of androgens and estrogens. J. Endocr. 45, 135-136 (1969b).

Baird DT, Galbraith A, Fraser IS, Newsam JE: The concentration of oestrone and oestradiol-17 β in spermatic venous blood in men.
J. Endocr. 57, 285-288 (1973).

Baird DT, Burger PE, Heaven-Jones GD, Scaramuzzi J: The site of secretion of androstendion in nonpregnant women. J. Endocr. 63, 201-212 (1974).

Baird DT and Fraser IS: Concentration of oestrone and oestradiol-17 β in follicular fluid and ovarian venous blood of women. Clinical Endocrinology 4, 259-266 (1975).

Baker TG: A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. Proc. of the Royal Soc. B 158, 417-433 (1963).

Bauld WS: A method for the determination of oestriol, oestrone and oestradiol-17 β . Biochem. J. 63, 488-495 (1956).

Beall D: Isolation of oestrone from adrenal glands. Nature 144, 76-76 (1939).

Beall D: The isolation of oestrone from ox adrenals. J. Endocr. 2, 81-87 (1940).

Beck K: Morphology of the fetal adrenal cortex and maternal urinary oestriol excretion in pregnancy. Acta Obstet. Gynec. Scand. 50, 215-222 (1971).

Beck W. and Wuttke W: Diurnal variations of plasma luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin in boys and girls from birth to puberty. J. Clin. Endocrinol. Metab. 50, 635-639 (1980).

Berson SA and Yalow RS: Assay of plasma insuline in human subjects by immunological methods. *Nature* 184, 1648 (1959).

Bidlingmaier F, Versmold H, Knorr D: Plasma oestrogens in newborns and infants. In: Forest and Bertrand. *Sexual endocrinology of the perinatal period*. Vol. 32, pp. 299-314. Editions I.N.S.E.R.M., Paris 1974.

Bidlingmaier F and Knorr D: Oestrogen - Physiological and clinical aspects. Vol. 4, *Pediatric and adolescent endocrinology*. S. Karger, Basel 1978.

Bidlingmaier F, Dörr HG, Eisenmenger W, Kuhnle U, Knorr D: Testosteron and androstendion concentrations in human testis and epididymis during the first two years of life. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57, 311-315 (1983).

Bidlingmaier F, Dörr HG, Eisenmenger W, Kuhnle U, Knorr D: Contribution of the adrenal gland to the production of androstendion and testosterone during the first two years of life. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (1986), im Druck.

Bloch E: Metabolism of 4-¹⁴C-progesteron by human fetal testis and ovaries. *Endocrinology* 74, 833-845 (1964).

Boyar R, Finkelstein J, Roffwarg H, Kapen S, Weitzman E, Hellman L: Synchronization of augmented luteinizing hormone secretion with sleep during puberty. *N. Engl. J. Med.* 287, 582-586 (1972).

Boyar RM, Wu RHK, Roffwarg H, Kapen S, Weitzman ED, Hellman L, Finkelstein JW: Human puberty: 24-hour estradiol pattern in pubertal girls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43, 1418-1421 (1976).

Brown JB: A chemical method for the determination of oestriol, oestrone and oestradiol in human urine. *Biochem. J.* 60, 185-193 (1955).

Brown JB, MacNaughtan S, Smith M, Smyth AB: Further observations on the Kober-colour and Ittrich fluorescence reactions in the measurement of oestrone, oestradiol and oestriol. *J. Endocr.* 40, 175-188 (1968).

Brunecki E: Morphometrische Studie über die postnatale Entwicklung des Leydigzell-Systems des Menschen. Inauguraldissertation, Universität Düsseldorf (1984).

Buckler JMH and Clayton BE: Output of luteinizing hormone in the urine of normal children and those with advanced sexual development. *Arch. Dis. Childh.* 45, 478-484 (1970).

Channing C, Chacon M, Tanabe K, Gagliano P, Tildon T: Follicular fluid inhibin activity and steroid levels in ovarian tissue obtained at autopsy from human infants 18 to 200 days of age. *Fertility and Sterility* 42, 861-869 (1984).

Clements JA, Reyes FI, Winter JSD, Faiman C: Studies on human sexual development: III. Fetal pituitary, serum and amniotic fluid concentrations of LH, CG and FSH. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42, 9-19 (1976).

Dhom G: *Die Nebenniere im Kindesalter*. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1965.

Diczfalussy E: Endocrinology of the foetus. *Acta Obstet. Gynec. Scand.* 41 (Suppl. 1), 45-85 (1962).

Diczfalussy E and Mancuso S: Oestrogen metabolism in pregnancy. In: Klopper and Diczfalussy: *Foetus and placenta*, pp. 191-248, Blackwell Scientific Publication, Oxford 1969.

Erlanger BF, Borek F, Beiser SM, Lieberman S: Steroid protein conjugates. I. Preparation and characterization of conjugates of bovine serum albumin with testosterone and with cortisone. *J. Biol. Chem.* 228, 713-727 (1957).

Evans JI, MacLenn AW, Ismail AAA, Love D: Concentrations of plasma testosterone in normal men during sleep. *Nature* 229, 261-262 (1971).

Faiman C. and Winter JSD: Sex differences in gonadotrophin concentrations in infancy. *Nature* 232, 130-131 (1971).

Forest MG, Cathiard AM, Bertrand JA: Evidence of testicular activity in early infancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37, 148-151 (1973).

Forest MG, Sizonenko-PC, Cathiard AM, Bertrand JA: Hypophyso-gonadal function in humans during the first year of life: 1 Evidence for testicular activity in early infancy. *J. Clin. Invest.* 53, 819-828 (1974).

George FW and Wilson JD: Conversion of androgen to estrogen by the human fetal ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47, 550-555 (1978).

George FW, Milewich L, Wilson JD: Oestrogen content of the embryonic rabbit ovary. *Nature* 274, 172-173 (1978).

George FW, Simpson ER, Milewich L, Wilson JD: Studies on the regulation of the onset of steroid hormone biosynthesis in fetal rabbit gonads. *Endocrinology* 105, 1100-1106 (1979).

George FW and Wilson JD: Endocrine differentiation of the fetal rabbit ovary in culture. *Nature* 283, 861-863 (1980).

Goldman AS, Yakovac WC, Bongiovanni AM: Development of activity of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in human fetal tissues and in two anencephalic newborns. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 26, 14-22 (1966).

Goldzieher JW and Roberts IS: Identification of estrogens in the human testis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 12, 143-150 (1952).

Greenblatt PB, Colle ML, Mahesh VB: Ovarian and adrenal steroid production in the post-menopausal women. *Obstet. Gynecol.* 47, 383-387 (1976).

Grodin JM, Siiteri PK, MacDonald PC: Source of estrogen production in post-menopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36, 207-214 (1973).

Grumbach MM, Grave GD, Mayer FE: Control of the onset of puberty. John Wiley and Sons, New York (1974).

Gurpide E, Stoles A, Tseng L: Quantitative studies of tissue uptake and disposition of hormones. *Acta Endocrinol. (Suppl.)* 153, 247 (1971).

Hartmann, H.: Über Bildung und Reifung von Follikeln. *Arch. f. Gynäk.* 128, 1-10 (1926).

Hoffmann B, Karg H, Heinritz KH, Behr H, Rattenberger E: Moderne verfahren der Östrogenbestimmung und deren Anwendung für die Rückstandsproblematik. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* 66, 20-37 (1975).

Johanson A, Vann E: Fluctuations of gonadotropin levels in children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39, 154-159 (1975).

Jost A: Problems of fetal endocrinology: the gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Prog. Horm. Res.* 8, 379-413 (1953).

Judd HL, Parker DC, Siler TM, Yen SSC: The nocturnal rise of plasma testosterone in pubertal boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38, 710-713 (1974a).

Judd HL, Judd GE, Lucas WE, Yen SSC: Endocrine function of the post-menopausal ovary; concentration of androgens and estrogens in ovarian and peripheral vein blood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39, 1020-1024 (1974b).

Judd HL, Parker DC, Yen SSC: Sleep-wake patterns of LH and testosterone release in prepubertal boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44, 865-869 (1977).

Jungmann RA and Schweppe JS: Biosynthesis of sterols and steroids from acetate-¹⁴C by human fetal ovaries. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 28, 1599-1604 (1968).

Kelch RP, Jenner MR, Weinstein R, Kaplan SL and Grumbach MM: Estradiol and testosterone secretion by human, simian and canine testes, in males with hypogonadism and in male pseudohermaphrodites with the feminizing testes syndrom. *J. Clin. Invest.* 51, 824-830 (1972).

Keymolen V, Dor P, Borkowsky A: Output of oestrogens, testosterone and their precursors by isolated human adrenal cells as compared with that of glucocorticosteroids. *J. Endocr.* 71, 219-229 (1976).

Kley HK und Rick W: Einfluß von Lagerung und Temperatur auf die Analyse von Steroide in Plasma und Blut. *J. Clin.Chem. Clin. Biochem.* 22, 371-378 (1984).

Kober S: Eine kolorimetrische Bestimmung des Brunsthormons (Menformon). *Biochem. Z.* 239, 209-212 (1931).

Kraus FT and Neubecker RD: Luteinization of the ovarian theca in infants and children. *Am. J. Clin. Path.* 37, 389-397 (1962).

Krawczynska H, Zachmann M, Prader A: Urinary testosterone glucuronide and sulphate in newborns and young infants. *Acta Endocrinol.* 82, 842-850 (1976).

Kuhnle U, Bildingmaier F, Knorr D: Urinary free and conjugated oestrone and oestradiol-17 β in early infancy. *Acta Endocrinol.* 100, 150-153 (1982).

Kulin HE, Moore RG Jr., Santner SJ: Circadian rhythmus in gonadotropin excretion in prepubertal and pubertal children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42, 770-773 (1976).

Leinonen P: Estrone and estradiol concentrations in the testis and spermatic and peripheral venous blood of elderly men: the influence of estrogen treatment. *J. Steroid Biochem.* 13, 737-742 (1980).

Lintern-Moore S, Peters H, Moore GPM and Faber M: Follicular development in the infant human ovary. *J. Reprod. Fert.* 39, 53-64 (1974).

Lipsett MB: Steroid hormones, in Yen SSC, Jaffe RB: Reproductive Endocrinology pp. 80-92, W.B. Saunders Company 1978.

Longcope C, Kato T., Horton R: Conversion of blood androgens to estrogens in normal adult men and women. *J. Clin. Invest.* 48, 2191-2201 (1969).

Longcope C, Widrich W, Sawin CT: The secretion of estrone and estradiol-17 β by human testis. *Steroids* 20, 439-448 (1972).

MacDonald PC, Madden JD, Brenner PF, Wilson JD, Siiteri PK: Origin of estrogen in normal men and in women with testicular feminization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49, 905-916 (1979).

Merrill JA: The morphology of the prepubertal ovary. *Southern Med. J.* 56, 225-231 (1963).

Naftolin F, Yen SSC, Tsai CC: Rapid cycling of plasma gonadotropins in normal men as demonstrated by frequent sampling. *Nature* 236, 92-93 (1972).

Nankin HR and Troen P: Repetitive luteinizing hormone elevations in serum of normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33, 558-560 (1971).

Neville AM and O'Hare MJ: The human adrenal cortex. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1982.

Pasqualini T, Chemes H, Rivarola MA: Testicular testosterone levels during puberty in cryptorchidism. *Clin. Endocrinology* 15, 545-554 (1981).

Payne AH and Jaffe RB: Androgene formation from pregnenolone sulfate by the human fetal ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39, 300-304 (1974).

Penny R, Olambiwonnu NO, Frasier SD: Episodic fluctuations of serum gonadotropins in pre- and post-pubertal girls and boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45, 307-311 (1977).

de Peretti E and Forest MG: Unconjugated dehydroepiandrosterone plasma levels in normal subjects from birth to adolescence in human. The use of a sensitive radioimmunoassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43, 982-991 (1976).

de Peretti E and Forest MG: Pattern of plasma dehydropiandrosterone sulfate levels in humans from birth to adulthood: evidence for testicular production. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47, 572-577 (1978).

Peters H, Himelstein-Braw R, Faber M: The normal development of the ovary in childhood. *Acta Endocrinol.* 82, 617-630 (1976).

Peters H, Byskow AG, Grinsted J: Follicular growth in fetal and pre-pubertal ovaries of humans and other primates. *Clinics in Endocrinology and Metabolism* 7, 469-485 (1978).

Pham-Huu-Trung MT, Gourmelen M, Girard F: The simultaneous assay of cortisol and 17-alpha-hydroxyprogesterone in the plasma of patients with congenital adrenal hyperplasia. *Acta Endocrinol.* 74, 316-321 (1973).

Phillips GB, Yano K, Stemmermann GN: Decrease in serum estradiol values with storage. *N. Engl. J. Med.* 311, 1635 (1984).

Picon R: Activité Δ^5 -3 β hydroxystéroïde dehydrogénasique du testicule foetal de rat in vitro. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 56, 281-290 (1976).

Pinkerton JHM: Oestrogen production in the immature human ovary (observations based upon histochemical studies). *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.* 66, 820-822 (1959).

Polhemus DW: Ovarian maturation and cyst formation in children. *Pediatrics* 11, 588-594 (1953).

Potter G: The ovary in infancy and childhood. In: Grady HG and Smith DE: (Ed): The Ovary, pp 11-23. Williams and Wilkins, Baltimore 1963.

Purdy RH, Engel LL, Oncley JL: The characterization of estrone sulfate from human plasma. *J. Biol. Chem.* 236, 1043 (1961).

Resko JA and Eik-Nes KB: Diurnal testosterone levels in peripheral plasma of human male subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 26, 573-576 (1966).

Resko JA: Fetal hormones and the development of the central nervous system in primates. In: *Advances in Sex Hormon Research*, Vol. 3: Regulatory Mechanisms affecting gonadal hormon action. (Ed) Thomas JA, Singhal RL, pp. 139-168. Univ. Park Press, Baltimore 1977.

Reyes FI, Winter JSD, Faiman C: Studies on human sexual development. I. Fetal gonadal and adrenal sex steroids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37, 74-78 (1973).

Reyes FI, Winter JSD, Faiman C: Gonadotropin-gonadal interrelationships in the fetus. In: *Diabetes and other endocrine disorders during pregnancy and in the newborn* pp.83-106. Alan R. Liss, Inc., New York 1976.

Roberts JD and Warren J: Steroid biosynthesis in the fetal ovary. *Endocrinology* 74, 846-862 (1964).

Runge E: Beitrag zur Anatomie der Ovarien Neugeborener und Kinder vor der Pubertätszeit. *Arch. f. Gynäk.* 80, 43-67 (1906).

Ruokonen A, Laatikainen T, Laitinen EA, Vihko R: Free and sulfate-conjugated neutral steroids in human testis tissue. *Biochemistry* 11, 1411-1416 (1972).

Saez JM, Morera AM, Dazord A, Bertrand J: Adrenal and testicular contribution to plasma oestrogens. *J. Endocr.* 55, 41-49 (1972).

Sauramo H: Histology and function of the ovary from the embryonic period to the fertile age. *Obstet. Gynec. Scand.* 33 Suppl. 2, 1-25 (1954).

Schindler AF and Friedrich E: Steroid metabolism of foetal tissues. I. Metabolism of pregnenolone-4-¹⁴C by human foetal ovaries. *Endocrinology* 65, 72-79 (1975).

v. Schnakenburg K, Bidlingmaier F, Knorr D: 17-Hydroxyprogesterone, androstendione and testosterone in normal children and in prepubertal patients with congenital adrenal hyperplasia. *Eur. J. Pediat.* 133, 259-267 (1980).

Sholl SA, Goy RW: Androgen and estrogen synthesis in the fetal guinea pig gonad. *Biol. Reprod.* 18, 160 (1978).

Short RV and London DR: Defective biosynthesis of ovarian steroids in the Stein-Leventhal syndrome. *British Medical Journal* 1, 1724-1727 (1961).

Siiteri PK and Wilson JD: Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38, 113-125 (1974).

Simkins CS: Development of the human ovary from birth to sexual maturity. *Amer. J. Anat.* 51, 465-505 (1932).

Smith OW: Oestrogens in ovarian fluids of normally menstruating women. *Endocrinology* 67, 698-707 (1960).

Snedecor GW: Query No 92, *Biometrics* 8, 85-86 (1952).

Spivak M: Polycystic ovaries in the newborn and early infancy and their relation to the structure of endometrium. *Am. J. Obstet. Gynec.* 27, 157-173 (1934).

Southren AL, Tochimoto S, Carmody NL, Isurugi K: Plasma production rates of testosterone in normal adult men and women and in patients with the syndrome of feminizing testes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 25, 1441-1450 (1965).

Takahashi J, Higashi Y, La Nasa JA, Winters SJ, Oshima H, Troen P: Studies of the human testis. XVII. Gonadotropin regulation of intra-testicular testosterone and estradiol in interfile men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55, 1073-1080 (1982).

Valdes-Dapena: The normal ovary of childhood. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 142, 597-613 (1967).

Vermes I, Dohanics J, Toth G, Pongrácz J: Maturation of the circadian rhythm of the adrenocortical functions in human neonates and infants. *Hormone Research* 12, 237-244 (1980).

van Wagenen G and Simpson ME: Embryology of the ovary and testis in homo sapiens and macaca mulatta. Yale Univ. Press, New Haven, London 1965.

Villee CA: Placental and fetal tissues: a biphasic system for the synthesis of steroids. *Am. J. Obstet. Gynec.* 104, 406-415 (1969).

Wilson JD, Griffin JE, George FW, Leshin M: The role of gonadal steroids in sexual differentiation. *Recent Prog. Horm. Res.* 37, 1-33 (1981).

Winter JSD and Faiman C: Development of cyclic pituitary gonadal function in adolescent females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37, 714-718 (1973).

Winter JSD, Faiman C, Hobson WC, Prasad AV and Reyes FI: Pituitary-gonadal relations in infancy. I. Patterns of serum gonadotropin concentrations from birth to four years of age in man and chimpanzee. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40, 545-551 (1975).

Winter JSD, Hughes IA, Reyes FI, Faiman C: Pituitary-gonadal relations in infancy: 2. Patterns of serum gonadal steroid concentrations in man from birth to two years of age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42, 679-686 (1976).

Zondek LH and Zondek T: Ovarian hilar cells and testicular Leydig-cells in anencephaly. *Biol. Neonate* 43, 211-219 (1983).

Lebenslauf

Am 1. Februar 1954 wurde ich als Sohn des Senatsrates a.D. Wolfgang Strom und seiner Ehefrau Irene, geb. Nann, in Berlin Lichterfelde geboren.

Ich besuchte die Carl-Orff-Grundschule und das Evangelische Gymnasium zum Grauen Kloster in Berlin, wo ich im März 1973 das Abitur bestand.

Von 1973 - 1977 studierte ich Volkswirtschaft an der FU-Berlin.

Medizin studierte ich von 1977 - 1982 an der FU-Berlin und von 1982 - 1983 an der LMU-München.

Ich famulierte in der Pädiatrie (Berlin), Allgemeinchirurgie (Berlin), Kardiologie (Berlin) und in der Allgemeinpraxis (Italien).

Von 1981 - 1982 arbeitete ich als Lehrbeauftragter für Pharmakologie an der Krankenpflegeschule des Sankt-Gertrauden-Krankenhauses (Berlin) und als studentischer Tutor am Institut für Klinische Chemie und Biochemie am Klinikum Steglitz.

Die Approbation als Arzt wurde mir im November 1983 erteilt.

Seit Februar 1983 bin ich Doktorand bei Prof. Dr. Dr. Bidlingmaier an der Universitätskinderklinik München. Die vorliegende Arbeit wurde durch ein Graduiertenstipendium des Landes Bayern unterstützt.

